

Отзыв

официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата химических наук Сотниковой Юлии Сергеевны
на тему:

«Приготовление и исследование хроматографических свойств монолитных колонок для ВЭЖХ с новыми неподвижными фазами на основе гетероциклических азотсодержащих соединений»

по специальности – 02.00.02 – аналитическая химия

Актуальность темы исследования. Одним из актуальных направлений развития метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) является возможность создания новых монолитных органических колонок с заданными химическими и текстурными характеристиками. Насадочные колонки для ВЭЖХ имеют низкую гидродинамическую проницаемость и наличие нежелательных тепловых градиентов. Одно из решений – применение технологии монолитных колонок на основе органических полимеров, проявляющих химическую устойчивость в широком диапазоне pH. Монолитные колонки, в основном, получают в капиллярном формате. Они просты в приготовлении, но имеют малую загрузочную емкость, что не позволяет вводить в колонку пробу большого объема. Публикации по оценке загрузочной емкости монолитных колонок несмотря на то, что это – одна из основных эксплуатационных характеристик хроматографической колонки, практически отсутствуют. При этом большинство органических материалов обладают преимущественно каким-либо одним конкретным типом свойств (*гидрофобными/гидрофильными/ионообменными*), и разделение образцов сложного состава на таких колонках становится весьма проблематичным. **Актуальной** задачей является получение монолитных колонок со смешанным механизмом удерживания и оптимизированными условиями синтеза таким образом, чтобы, меняя функциональный мономер в полимеризационной смеси, можно было бы сохранять постоянными природу порообразователя, время и температуру полимеризации.

Научная новизна. Впервые приготовлены монолитные колонки для ВЭЖХ, в которых неподвижной фазой является пористый полимер на основе стирола, дивинилбензола и гетероциклического азотсодержащего мономера (1-винилимидазола, 4-винилпиридина, 1-винил-2-пирролидона, 1-винил-1,2,4-триазола), и выявлены их

хроматографические характеристики: эффективность, селективность разделения, загрузочная емкость и гидродинамические свойства.

Предложен способ *in situ* изменения селективности монолитной хроматографической колонки с органическим сорбентом на основе стирола, дивинилбензола и 4-винилбензилхлорида с последующей модификацией производными имидазола и пиридина.

Практическая значимость. Установлено, что полученные новые монолитные колонки на основе органических полимеров могут быть использованы для разделения низко- и высокомолекулярных аналитов, гидрофильных и гидрофобных соединений. Выявлены достоинства монолитных колонок на основе дивинилбензола и стирола по сравнению с насадочными по величине гидродинамической проницаемости.

Степень достоверности результатов исследования и апробация работы.

Достоверность результатов работы обеспечена согласованностью экспериментальных данных, полученных с применением комплекса современных физико-химических методов исследования. Результаты работы опубликованы в высокорейтинговых международных и российских журналах и прошли широкую апробацию на Всероссийских научно-исследовательских конференциях.

Соответствие специальности 02.00.02 – аналитическая химия. Диссертационная работа Сотниковой Ю.С. соответствует пункту 2 «Методы химического анализа (химические, физико-химические, атомная и молекулярная спектроскопия, хроматография, рентгеновская спектроскопия, масс-спектрометрия, ядерно-физические методы и др.)», пункту 10 «Анализ органических веществ и материалов», пункту 15 «Анализ лекарственных препаратов», пункту 13 «Анализ пищевых продуктов» паспорта специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Результаты диссертационного исследования опубликованы в 8 статьях в научных журналах, из которых 7 входят в Перечень ВАК; 6 публикаций из 8 входят в международные базы научного цитирования Web of Science и Scopus. Опубликовано 12 тезисов докладов на международных и российских конференциях.

Объем и структура работы. Оценка содержания диссертации.

Диссертация изложена на 156 страницах, содержит 74 рисунка и 10 таблиц, список литературы содержит 367 источников. Работа состоит из введения, обзора литературы,

экспериментальной части, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы

Литературный обзор диссертации посвящен монолитным и насадочным колонкам; сорбентам с гидрофобными и гидрофильными свойствами, с аффинным, хиральным и со смешанным механизмом удерживания аналитов; способам оценки селективности монолитных колонок. Рассмотрены методы приготовления монолитных материалов и способы их модификации с целью получения материалов с регулируемой селективностью. Особое внимание уделено гетероциклическим азотсодержащим мономерам – производным имидазолов, пиридинов, триазолов. Тщательный анализ литературных данных позволил диссертанту выработать собственную стратегию постановки экспериментов, выбрав в качестве основных объектов исследования монолитные колонки с органическими сорбентами на основе сополимера стирола, дивинилбензола и гетероциклических азотсодержащих мономеров.

Таким образом, целью диссертационного исследования Сотниковой Ю.С. явилась разработка методов приготовления новых хроматографических монолитных колонок для ВЭЖХ на основе дивинилбензола (ДВБ) и стирола и исследование их свойств.

Во второй главе (*Экспериментальная часть*) представлены разработанные диссертантом методики получения монолитных органических колонок на основе сополимера стирола, ДВБ и функциональных мономеров методом свободно-радикальной термически инициируемой полимеризации. После серии предварительных экспериментов установлено, что наиболее подходящими порообразователями оказались полипропиленгликоль (М 2025 г/моль) и триблоксополимер Pluronic 10R5. Установлено, что полимеры, приготовленные на основе 1-винилимидазола (ВИ) и 4-винилпиридина относятся к макропористым и имеют низкие величины удельной площади поверхности ~ 6 м²/г; в случае монолитной колонки на основе винилтриазола (ВТр40) этот параметр существенно выше (200 м²/г).

В *третьей главе* обсуждаются результаты проведенных исследований. Диссертантом получено 28 новых монолитных неподвижных фаз на основе сополимера стирола и дивинилбензола (от 30 до 70 об. %) с добавлением гетероциклического азотсодержащего мономера, протестированных на пригодность к дальнейшим исследованиям путем хроматографического анализа тестовой смеси, состоящей из полярного (фенол) и неполярного (бензол) соединений. Показано, что с увеличением

содержания функционального сомономера в полимеризационной смеси фактор удерживания фенола увеличивается, а бензола – снижается.

Важной частью диссертационной работы является определение *загрузочной емкости* модифицированных колонок. Для оценки вклада конкретного механизма удерживания, исследована зависимость логарифма фактора удерживания (k) неполярного и полярного тестовых веществ от состава подвижной фазы (ацетонитрил/вода). Показано, что исследованные монолитные колонки позволяют работать с пробами, которые сравнимы по величине загрузки для насадочной колонки с неподвижной фазой аналогичной природы, а при содержании в подвижной фазе ацетонитрила 60 % (объемн.) загрузочная емкость приготовленных монолитных колонок оказалась выше, чем коммерческой насадочной колонки.

Серия специальных экспериментов была посвящена выявлению *гидродинамической проницаемости* монолитных колонок – одному из наиболее существенных их достоинств по сравнению с насадочными. Установлено, что зависимости перепада давления от скорости подвижной фазы в диапазоне от 10 до 650 мкл/мин имеют линейный характер, что указывает на высокую механическую стабильность монолитных колонок. Коэффициенты проницаемости оказались на порядок выше, чем для насадочных колонок с размером гранул 5 мкм. Это, в свою очередь, позволило ускорить процесс разделения на монолитных колонках путем увеличения потока подвижной фазы и длины колонки.

Исследование *текстурных характеристик* новых монолитных колонок проведено методами сканирующей электронной микроскопии и низкотемпературной адсорбции азота, обеспечив оценку удельной площади поверхности и вклада микро- и мезопор в пористую систему монолитов. Установлено, что полимеры, приготовленные на основе 1-винилимидазола и 4-винилпиридина относятся к макропористым и имеют низкие величины удельной площади поверхности $\sim 6 \text{ м}^2/\text{г}$; в случае монолитной колонки на основе винилтриазола (ВТр40) этот параметр существенно выше ($200 \text{ м}^2/\text{г}$). Благодаря изменению количества сшивающего агента (ДВБ) в исходной смеси получены монолитные колонки с разнообразными текстурными характеристиками. При высоком содержании ДВБ наблюдается изменение пористого пространства с образованием небольших мезопор (6–8 нм). Поскольку для жидкостной хроматографии микропористость является нежелательной характеристикой сорбента, в качестве наиболее подходящих порообразователей для приготовления монолитных колонок с максимальной

эффективностью диссертант отдает предпочтение полипропиленгликолю (М 2025 г/моль) и триблоксополимеру Pluronic 10R5 (2000 г/моль).

Важным этапом диссертационной работы явился проведенный цикл экспериментов по исследованию *хроматографической селективности* приготовленных монолитных колонок. Одним из наиболее информативных методов оценки **селективности** хроматографических колонок с точки зрения типов межмолекулярных взаимодействий является модель линейных отношений энергий сольватации. При хроматографическом анализе 35 тестовых веществ с различными химическими свойствами диссертантом установлено, что удерживание аналитов на данных неподвижных фазах определяется, в основном, гидрофобными взаимодействиями. Обнаружено, что в зависимости от типа функционального мономера и его концентрации можно в достаточно широких пределах варьировать селективность монолитных колонок. Так, показано, что колонки с монолитом на основе 4-винилпиридина, в большей степени, проявляют свойства акцептора протона по сравнению с другими. Поскольку приготовленные колонки представляют собой неполярную матрицу ДВБ-Ст с введенными в нее полярными группами в виде азотсодержащих гетероциклов, автором работы было высказано предположение, что удерживание аналитов могло бы происходить по смешанному механизму, что и было подтверждено в выполненных экспериментах, а именно: для монолитных колонок с полярными функциональными группами в условиях, когда фактор емкости возрастает с увеличением доли воды в элюенте, реализуется механизм обращенно-фазовой ВЭЖХ. Если же фактор емкости аналита увеличивается с уменьшением доли воды в элюенте, реализуется механизм гидрофильной хроматографии. Обнаружено, что на колонке ВИ25 разделение смеси белков в 2 раза быстрее, чем на коммерческой колонке, а при этом расход элюента в 6 раз меньше. Преимуществом колонки ВИ25 является и то, что она, помимо белковых макромолекул, позволяет разделять низкомолекулярные аналиты.

Одним из путей изменения селективности колонок для ВЭЖХ является *постмодификация* поверхности хроматографического сорбента. В работе в качестве источника функциональных групп выбран 4-винилбензилхлорид. Путем *in situ* модифицирования исходной колонки на основе 4-винилбензилхлорида 1-метилимидазолом, 2-метилимидазолом, 2-метилпиридином, 4-метилпиридином получены монолитные колонки с селективностью разделения, отличной как от исходной колонки, так и друг от друга. Загрузочная емкость модифицированных колонок составила 11–17 мкг, а эффективность (ВЭТТ) - от 43 до 57 мкм в обращенно-фазовом режиме и от 27 до 52 мкм - в гидрофильном. Эти монолитные колонки проявили новые хроматографические

свойства. С использованием тестовой смеси (*урацил, кофеин, толуол и фенол*) установлен смешанный (обращенно-фазовый или гидрофильный) механизм удерживания аналитов.

Обнаруженные закономерности на модельных системах подтверждены при анализе реальных объектов: продуктов реакции синтеза нитроспиртов, смеси ароматических углеводородов с различными функциональными группами, компонентов натурального коровьего молока, смеси белков (*лактальбумин, лизоцим, овальбумин и бычий сывороточный альбумин*). Интересной по своим хроматографическим характеристикам оказались монолитные колонки на основе 1-винил-1,2,4-триазола. Их гидрофильные свойства обеспечили разделение малых полярных молекул, которые в режиме ОФ ВЭЖХ слабо удерживаются, что продемонстрировано на примере анализа лекарственных препаратов «Пенталгин» и «Каффетин». Важен и следующий результат: в режиме гидрофильной хроматографии эта колонка способна разделять аномеры глюкозы, фруктозы и мальтозы. Таким образом, полученные в диссертационной работе Сотниковой Ю.С. органические монолитные материалы на основе сополимеров стирола, дивинилбензола и гетероциклических азотсодержащих сомономеров, обеспечивающих разделение аналитов различной полярности и молекулярной массы, являются надежной альтернативой единственной существующей коммерческой монолитной колонке Thermo RP-3U. Установлено, что основной особенностью модифицированных колонок явилась их способность работать в смешанном (обращенно-фазовом/гидрофильном) режиме. Колонка, модифицированная 1-метилимидазолом, обеспечила экспрессное разделение компонентов противовоспалительного лекарственного препарата «Аскофен-П» в режиме гидрофильной хроматографии, и по сравнению с насадочной колонкой разделение осуществлялось в изократическом режиме и, к тому же, в 2 раза быстрее.

По работе возник ряд вопросов и замечаний

1. Из текста диссертационной работы остается неясным, какова воспроизводимость процедуры постмодификации монолитных колонок.
2. Сколь корректна интерпретация результатов по удельной поверхности монолитов, если они получены для сухого сорбента?
3. В диссертационной работе утверждается, что для дальнейших исследований текстурных и хроматографических характеристик выбрана только одна колонка с содержанием 1-винил-2-пирролидона (30 об. %). Справедливы ли обнаруженные закономерности для данного монолита по отношению к монолитным колонкам другой природы?

4. Чем обусловлена крайне низкая эффективность монолитной колонки ВИ40 и как объяснить малые коэффициенты проницаемости ВИ25 и ВИ40 (стр. 75. табл. 9)?
5. Отмечено (стр. 58), что для колонок с 1-винил,2,4-триазолом увеличение доли функционального мономера в исходной полимеризационной смеси не оказывает существенного влияния на изменение селективности колонок по полярному анализу. Требуется комментарий
6. Есть замечания стилистического характера: на стр. 25 сказано, что... *исследуется метод смешанной хроматографии...* Сколь устоявшаяся терминология такого понятия? Смешанный механизм разделения – понятно; но *смешанная хроматография*?! Встречаются незначительные опечатки (стр. 21, 25, 39, 58, 118).

Высказанные замечания не сказались на самом благоприятном впечатлении от этой диссертационной работы и ее высокой оценке. Выполнено интересное исследование и достигнуты значимые результаты. Диссертация и автореферат оформлены согласно требованиям действующих нормативных документов. Работа логично и четко изложена. Результаты диссертационного исследования доложены на представительных научных конференциях. Содержание автореферата и опубликованных трудов диссертанта полностью отвечает содержанию диссертации.

Заключение. Диссертация Сотниковой Ю.С. является цельной и завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему, связанную с приоритетными направлениями и программами развития отечественной фундаментальной и прикладной науки с использованием современных концепций и экспериментальных методологий и содержит решение важной задачи, состоящей в разработке методологии создания новых монолитных колонок для ВЭЖХ с регулируемой селективностью, высокой эффективностью и гидродинамической проницаемостью, что существенно расширяет аналитические возможности метода ВЭЖХ. По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, степени обоснованности положений и выводов диссертационная работа Сотниковой Юлии Сергеевны полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

На основании вышесказанного считаю, что диссертационная работа Сотниковой Юлии Сергеевны «Приготовление и исследование хроматографических свойств монолитных колонок для ВЭЖХ с новыми неподвижными фазами на основе гетероциклических азотсодержащих соединений» является завершенным квалификационным научным исследованием, выполненным на актуальную тему на

достаточно высоком научном уровне, обладает научной новизной и практической значимостью и соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 26.05.2020 г. № 751), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Сотникова Юлия Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Официальный оппонент:

Доктор химических наук,

Профессор кафедры органической химии

Института химии

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский Государственный Университет»

19.01.2021

 /Карцова Людмила Алексеевна/

Контактные данные: e-mail: kartsova@gmail.com

Специальность, по которой официальным оппонентом

защищена диссертация: 02.00.02 – Аналитическая химия

Адрес места работы: 198504, Россия, Санкт-Петербург, г. Петергоф, Университетский просп., д. 26, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский Государственный Университет»

Тел.: +7(812)428-40-44; e-mail: l.kartsova@spbu.ru


Подпись сотрудника



_____ удостоверяю:

ЗАМЕСТИТЕЛЬ НАЧАЛЬНИКА
УПРАВЛЕНИЯ КАДРОВ
ГУОРП

ОС СУВОРОВА РОССИЙСКОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА


19.01.2021