

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ НЕОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ им. А.В. НИКОЛАЕВА СО РАН  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

На правах рукописи

ЖДАНОВ Артём Александрович

**ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ВЭЖХ И КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ДЛЯ  
ИЗУЧЕНИЯ ПОЛИОКСОМЕТАЛЛАТОВ В РАСТВОРАХ**

02.00.02 – аналитическая химия

Диссертация на соискание  
ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:  
д.х.н. Шуваева Ольга Васильевна

Новосибирск – 2015

<b>Оглавление</b> .....	2
<b>Введение</b> .....	5
<b>Глава 1. Обзор литературы</b> .....	10
1.1. Полиоксометаллаты (ПОМ).....	10
1.1.1 Понятие ПОМ. Методы синтеза.....	11
1.1.2. Классификация ПОМ.....	12
1.1.3. Некоторые структурные типы ПОМ.....	13
1.2. Методы изучения ПОМ.....	16
1.2.1. Сепарационные методы исследования ПОМ.....	18
1.2.2. Жидкостная хроматография.....	19
1.2.3. Капиллярный электрофорез.....	21
1.2.4. Исследование ПОМ методом КЗЭ.....	22
1.2.5. Особенности оборудования, применяемого в системах КЭ.....	29
1.3. Проведение реакции внутри капилляра.....	33
<b>Глава 2. Реагенты, оборудование и методики</b> .....	38
2.1. Оборудование.....	38
2.2. Реагенты и методики.....	38
<b>Глава 3. Применение сепарационных методов для изучения полиоксометаллатов</b> .....	40
3.1. ГПС на основе вольфрама $[XW_{12}O_{40}]^{n-}$ .....	40
3.2. ГПС состава $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-3-x}$ .....	45
3.2.1. Изучение комплексных фосфованадомолибдатов с применением ВЭЖХ и КЗЭ.....	47
3.2.2. Сравнение возможностей ВЭЖХ и КЗЭ при исследовании смеси фосфованадомолибдатов.....	50
3.2.3. Идентификация фосфованадомолибдатов с применением ВЭЖХ-ИСП-АЭС.....	56
3.2.4. Особенности применения сепарационных методов для исследования полиоксометаллатов.....	66
3.2.5. Модификация кварцевого капилляра для разделения ПОМ состава $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-3-x}$ методами КЭ.....	71
3.3. Заключение.....	74
<b>Глава 4. Применение сепарационных методов для изучения различных типов ПОМ</b> .....	76

4.1. Смешанные ПОМ состава $[(SeM_9O_{33})_2(MO_x(H_2O)_y)_3]^{n-}$ , где $M=W/V(IV, V)$ .....	76
4.2. ГПС на основе Nb.....	81
4.3. Смешанные ПОМ на основе Ta и Ru.....	82
4.4. Разделение комплексных анионов со структурой типа Кеплера.....	83
<b>Глава 5. Изучение состава смеси продуктов синтеза ПОМ при проведении реакции непосредственно в разделительном капилляре (режим in-capillary).....</b>	<b>85</b>
5.1. Образование комплекса Си-ЭДТА в режиме in-capillary.....	87
5.1.1. Зависимость параметров аналитического сигнала от условий режима in-capillary.....	90
5.2. Образование комплекса $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ .....	92
5.2.1. Образование комплекса $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ в режиме in-capillary.....	94
5.2.2. Оптимизация условий проведения синтеза комплекса $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ .....	97
5.3. Изучение процесса образования комплекса $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ .....	100
5.3.1. Идентификация продуктов реакции в режиме in-capillary по значениям электрофоретических подвижностей.....	101
5.3.2. Реакция образования ПОМ состава $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-3-x}$ при различных соотношениях количеств реагентов.....	104
<b>Заключение.....</b>	<b>110</b>
<b>Выводы.....</b>	<b>111</b>
<b>Список литературы.....</b>	<b>113</b>

### ***Список используемых сокращений***

**APCI** – atmospheric pressure chemical ionization

**APPI** – atmospheric pressure photo ionization

**CSI-MS** – cryospray-ionization-MS

**EMMA** – electrophoretically mediated microanalysis

**ESI** – electrospray ionization

**FAB-MS** – fast-atom-bombardment MS

**MALDI-MS** – matrix-assisted-laser-desorption MS

**MS ESI** – electrospray-ionization-MS

**ВЭЖХ** – высокоэффективная жидкостная хроматография

**ВЭЖХ-ИСП-АЭС** – высокоэффективная жидкостная хроматография с детектированием при помощи атомной эмиссии с индуктивно-связанной плазмой

**ГПА** – гетерополиоанион

**ГПС** – гетерополисоединения

**ГХ** – газовая хроматография

**ДЭС** – двойной электрический слой

**ЖХ** – жидкостная хроматография

**ИПА** – изополианион

**ИП-ОФ-ВЭЖХ** – ион-парная обращено-фазовая ВЭЖХ

**ИСП-АЭС** – атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой

**КИТФ** – капиллярный изотахофорез

**КИЭФ** – капиллярная изоэлектрическая фокусировка

**КГЭ** – капиллярный гельэлектрофорез

**КЗЭ** – капиллярный зонный электрофорез

**КЭ** – капиллярный электрофорез

**КЭХ** – капиллярная электрохроматография

**МС** – масс-спектрометрия

**МЭКХ** – мицеллярная электрокинетическая хроматография

**НФ** – неподвижная фаза

**НФ-ВЭЖХ** – нормально-фазовая ВЭЖХ

**ОФ-ВЭЖХ** – обращено-фазовая ВЭЖХ

**ПАВ** – поверхностно-активные вещества

**ПМР** – протонный магнитный резонанс

**ПОМ** – полиоксометаллаты

**ТСХ** – тонкослойная хроматография

**ЭОП** – электроосмотический поток

**ЯМР** – ядерный магнитный резонанс

## ***ВВЕДЕНИЕ***

### ***Актуальность работы***

Химия полиоксометаллатов (ПОМ) – одна из наиболее динамично развивающихся областей современной неорганической химии. Полиоксометаллаты представляют собой многоцентровые кластеры, построенные из оксоанионов переходных металлов, которые, благодаря многообразию своих форм и свойств, находят широкое применение во многих областях как гомогенные и гетерогенные катализаторы окисления, как компоненты лекарственных препаратов, контрастирующие агенты для томографии и т.д. Традиционными методами изучения ПОМ являются такие методы, как ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия и рентгеноструктурный анализ, каждый из которых имеет свои ограничения и недостатки. Одной из наиболее важных проблем в химии ПОМ является изучение состава растворов, так как нередко раствор и выделенная из него твердая фаза значительно различаются по составу. В этой связи особого внимания заслуживают методы исследования, в основе которых лежит разделение компонентов смеси.

Современные сепарационные аналитические методы являются незаменимым инструментом при изучении широкого круга разнообразных объектов искусственного и природного происхождения. Принцип, на основе которого происходит разделение компонентов, зависит от их природы и свойств. Такие сепарационные методы, как газовая хроматография (ГХ), жидкостная хроматография (ЖХ), различные разновидности капиллярного электрофореза (КЭ) прочно вошли в практику большинства современных аналитических лабораторий.

Из всех перечисленных сепарационных техник наибольшее распространение к настоящему времени получила газовая хроматография, однако ее применение в ряде случаев ограничено исследованием летучих и термически устойчивых соединений. Для анализа объектов, которые не обладают достаточной летучестью или подвержены термической деструкции, наиболее подходящими являются высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и капиллярный электрофорез. Методы ВЭЖХ незаменимы при изучении состава природных и биологических образцов, лекарственных препаратов и т. п. Капиллярный зонный электрофорез (КЗЭ) широко используется для определения ионного состава объектов различной природы, а также для разделения биологических молекул в биохимических исследованиях. Однако, применение сепарационных методов для изучения состава комплексных соединений весьма ограничено. В то же время, большинство полиоксометаллатов растворимо в воде с образованием заряженных частиц, поэтому методы ВЭЖХ и КЗЭ

представляются весьма перспективными для исследования их состояния в растворах, характеризующихся многообразием сосуществующих химических форм. Изучение состава растворов комплексных полиоксометаллатов является достаточно сложной и актуальной задачей современной неорганической химии, решение которой связано с развитием и совершенствованием сепарационных методов анализа.

Настоящая работа проводилась по плану НИР V.44.4.1 «Синтез, строение и функциональные свойства новых кластерных соединений, полиоксометаллатов и металлорганических координационных полимеров», номер гос. регистрации: 01201351863, и в рамках проекта РНФ 14-03-00645.

**Целью** данной работы является развитие методов капиллярного электрофореза и ВЭЖХ применительно к изучению полиоксометаллатов в растворах. В соответствии с поставленной целью решались следующие **задачи**:

- оптимизация условий для изучения состава продуктов синтеза полиоксометаллатов состава  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$  методами ВЭЖХ и капиллярного зонного электрофореза;
- применение метода ВЭЖХ-ИСП-АЭС для определения состава компонентов ПОМ в растворах;
- оценка возможности изучения ПОМ в растворе методом КЗЭ при проведении реакции *непосредственно в капилляре* (режим *in-capillary*). Изучение закономерностей формирования сигналов продуктов реакции в режиме *in-capillary*;
- идентификация компонентов смеси комплексных фосфованадомолибдатов с применением КЗЭ в режиме *in-capillary* на основании расчета их электрофоретических подвижностей.

**Научная новизна.** В рамках настоящей работы предложены подходы к исследованию растворов ПОМ различного типа методами ион-парной обращено-фазовой ВЭЖХ (**ИП-ОФ-ВЭЖХ**) и КЗЭ, которые реализованы на примере изучения реальных смесей фосфованадомолибдатов, образующихся в ходе синтеза комплекса состава  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$  с заданной стехиометрией. Методы позволяют разделять компоненты исследуемых смесей с высокой эффективностью (порядка 4000–5000 теоретических тарелок для ВЭЖХ и 30000–50000 теор. тар. для КЗЭ) и с разрешением  $R_s > 1,5$ . Рассмотрены возможности применения разделительных методов ВЭЖХ и КЗЭ для изучения упомянутых ПОМ в комплексе с другими физико-химическими методами, а именно: ЯМР-спектроскопией (на ядрах  $^{51}V$ ) путем сопоставления электрофреграмм (хроматограмм) и ЯМР-спектров растворов, а также с использованием атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной

плазмой (ИСП-АЭС) в качестве элемент-селективного детектора для ВЭЖХ. Результаты идентификации компонентов смеси КЗЭ, ВЭЖХ и ЯМР находятся в хорошем соответствии между собой и подтверждаются данными о составе, полученными при помощи ВЭЖХ-ИСП-АЭС.

Методом КЗЭ изучен ряд реальных смесей полиоксометаллатов, образующихся в ходе синтеза различных ПОМ: комплексы на основе W и V состава  $[(\text{SeM}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO}_x(\text{H}_2\text{O})_y)_3]^{n-}$ , комплексы на основе Nb состава  $[\text{SiNb}_{12}\text{O}_{40}]^{16-} + [\text{H}_2\text{Si}_4\text{Nb}_{16}\text{O}_{56}]^{14-}$ , смеси ПОМ на основе Ru и Ta (политанталаты, содержащие рутений-органический фрагмент  $[(\text{C}_6\text{H}_6)\text{RuTa}_6\text{O}_{19}]^{6-} + [(\text{arene})\text{Ru}]_2\text{Ta}_6\text{O}_{19}]^{4-}$ ) и комплексы Кеплера ( $[\{\text{W}_6\text{O}_{21}(\text{H}_2\text{O})_6\}_{12}\{\text{Mo}_2\text{O}_4(\text{SeO}_4)\}_{30}]^{72-}$  и  $[\{\text{W}_6\text{O}_{21}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{CH}_3\text{COO})_{0.5}\}_{12}\{\text{Mo}_2\text{O}_4(\text{CH}_3\text{COO})\}_{30}]^{48-}$ ). Показано, что метод КЗЭ позволяет обеспечить качественное разделение компонентов смесей.

Показана принципиальная возможность применения КЗЭ для изучения продуктов синтеза ПОМ на основе фосфора, молибдена и ванадия путем проведения реакции непосредственно внутри капилляра (режим *in-capillary*) на примере реакций синтеза фосфомолибдат-иона  $[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$  и фосфованадомолибдат-иона  $[\text{PVMo}_{11}\text{O}_{40}]^{4-}$ . Для расчета электрофоретических подвижностей компонентов реакционной смеси в режиме *in-capillary* предложен подход, основанный на известных данных о подвижностях реагентов и условиях проведения процесса *in-capillary*. Предложенный способ позволил рассчитать электрофоретические подвижности продуктов, образующихся в ходе реакции синтеза фосфованадомолибдат-аниона состава  $[\text{PVMo}_{11}\text{O}_{40}]^{4-}$  и провести идентификацию пиков продуктов: целевого комплекса  $[\text{PVMo}_{11}\text{O}_{40}]^{4-}$  и побочного продукта  $[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$ .

### Практическая значимость работы

1. Показана принципиальная возможность применения сепарационных методов ВЭЖХ и КЗЭ для изучения состава сложных реакционных смесей, формирующихся в процессе синтеза ПОМ различного состава.
2. Изучен состав продуктов синтеза ранее не исследовавшихся ПОМ на основе вольфрама, ниобия и тантала с применением метода КЗЭ.
3. В результате сравнительной оценки возможностей и ограничений методов ВЭЖХ и КЗЭ для исследования комплексных полиоксометаллатов показано, что КЗЭ демонстрирует более высокую эффективность при меньшей селективности, что важно для разделения сложных многокомпонентных

смесей. Для метода ОФ-ИП-ВЭЖХ характерна более высокая селективность, однако он имеет существенное ограничение, связанное с использованием ион-парного реагента, ассоциаты которого с исследуемыми комплексными анионами склонны к образованию осадков.

4. Оптимизированы условия применения гибридного метода ВЭЖХ-ИСП-АЭС для определения качественного и количественного состава продуктов синтеза комплексных ПОМ на примере фосфомолибдованадатов состава  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$ .
5. Показано, что результаты исследований ПОМ состава  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$  с применением методов ВЭЖХ и КЗЭ согласуются с данными  $^{51}V$ -ЯМР.

### **Методология и методы диссертационного исследования**

Наиболее серьезными проблемами изучения полиоксометаллатов в растворах являются многообразие сосуществующих соединений с различной стехиометрией и практически полное отсутствие индивидуальных соединений, которые необходимы для идентификации компонентов смеси. По этой причине нами была предложена методология исследования, в основе которой лежит подход, ориентированный на использование специально синтезированных комплексов определенной стехиометрии, из которых была приготовлена условно-модельная смесь различных ПОМ. Для распознавания присутствующих в смеси соединений применяли комплекс методов, а именно: ЯМР-спектроскопию на ядрах  $^{51}V$ , ВЭЖХ и капиллярный зонный электрофорез с УФ-детектированием, что позволило сделать в первом приближении предположение о составе присутствующих в изучаемой системе комплексов. Для более корректной идентификации и отнесения аналитических сигналов на хроматограммах и электрофореграммах использовали сочетание ВЭЖХ как метода разделения с ИСП-АЭС в качестве элемент-селективного детектора в режимах *off-line* и *on-line*. Принимая во внимание технические сложности сочетания КЗЭ с элемент-селективными детекторами, нами предложен оригинальный прием, основанный на уникальной возможности проведения реакции синтеза ПОМ непосредственно в кварцевом капилляре системы капиллярного электрофореза в режиме *in-capillary*, для которого были изучены основные закономерности формирования аналитических сигналов продуктов в зависимости от напряжения и параметров ввода реагентов. С целью идентификации компонентов смеси в режиме *in-capillary* был предложен подход для расчета электрофоретических подвижностей присутствующих в растворе ПОМ.



### **На защиту выносятся следующие основные положения диссертации:**

- методология изучения состава смесей комплексных полиоксометаллатов с применением сепарационных методов ВЭЖХ и КЗЭ;
- оценка возможности исследования состава ПОМ при проведении реакции синтеза непосредственно в капилляре (режиме *in-capillary*);
- закономерности формирования аналитических сигналов при проведении синтеза ПОМ в режиме *in-capillary*;
- способ расчета электрофоретических подвижностей компонентов смеси ПОМ в режиме *in-capillary*;
- результаты изучения состава продуктов синтеза новых ПОМ на основе вольфрама, ниобия и тантала методом КЗЭ.

### **Личный вклад автора**

Все результаты, представленные в работе, получены самим автором. Автор участвовал в постановке задач, решаемых в рамках диссертационной работы, самостоятельно проводил все эксперименты, обрабатывал результаты, активно участвовал в интерпретации полученных данных, написании и подготовке к публикации научных статей и тезисов конференций.

### **Степень достоверности и апробация работы**

Полученные результаты не противоречат данным, опубликованным ранее. Большинство представленных в работе результатов было получено впервые, например: исследование ряда полиоксометаллатов на основе ванадия, вольфрама, ниобия и тантала и использование подхода *in-capillary* для изучения реакций синтеза фосфованадомолибдатов. Достоверность новых данных подтверждена удовлетворительным согласием результатов, которые были получены с применением различных подходов и методов исследования.

Разработанные подходы к исследованию полиоксометаллатов разделительными методами были успешно применены при разработке методик синтеза новых ПОМ для изучения качественного и количественного состава продуктов реакций.

### **Структура и объем работы**

Работа состоит из введения и 5 глав, основных результатов и выводов, заключения, 17 таблиц и 38 рисунков и списка литературы, содержащего 298 ссылок.

## **ГЛАВА 1. Обзор литературы**

### **1.1. Полиоксометаллаты**

Полиядерные оксо-гидроксо комплексы металлов – полиоксометаллаты – формируют один из важнейших классов неорганических соединений [1, 2]. Эти соединения представляют интерес с точки зрения различных направлений науки: в фотохимии [3], электронной микроскопии [4, 5], как контрастирующие реагенты для томографии и компоненты лекарственных препаратов в медицине и фармакологии [6], как катализаторы окисления [7–15]. Каталитические свойства ПОМ во многом определяются их возможностью принимать и отдавать некоторое фиксированное число электронов без разложения или изменения структуры [16–18]. ПОМ находят широкое применение для катализа в как гомогенных, так и в гетерогенных условиях. Однако у гомогенного варианта электрокатализа существует ряд недостатков. Во-первых, скорости протекания реакций в случае гомогенного катализа достаточно малы, и для их ускорения требуется дополнительная энергия. Во-вторых, в большинстве случаев для таких реакций характерна низкая селективность, и, в-третьих, возможно осаждение или адсорбция ПОМ в ходе реакции, что может осложнять исследование полученных в ходе каталитической реакции смесей [19–25]. Многие из перечисленных проблем можно решить путем нанесения и закрепления ПОМ на определенном твердом носителе [26–30]. Данный подход широко применяется для создания специализированных электродов и электрохимических сенсоров, в основе действия которых лежит процесс, в котором ПОМ выступают как катализаторы. В целом, интерес к ПОМ поддерживается в основном благодаря их уникальной каталитической активности и возможности использования в качестве катализаторов и в медицине.

Интенсивное развитие химии ПОМ началось в начале 90х годов. В 1991г в работах Pore и Muller были собраны основные достижения в химии ПОМ [31, 32]. Значительный скачок наблюдался в конце 90х годов. Все результаты в области исследования ПОМ к этому моменту обобщены в [33], включая историю, достижения, направления развития, возможности применения ПОМ и другие разделы химии полиоксометаллатов. Огромное количество синтезируемых и охарактеризованных ПОМ связано, в первую очередь, с развитием инструментальных методов исследования, приборной базы и развития новых подходов к синтезу [34]. Большинство публикаций посвящено синтезу новых структур, медицинским и биохимическим исследованиям, катализу, теоретическим расчетам и созданию новых материалов на основе ПОМ [35].

Благодаря различиям в составе, строении, размерах и зарядах кластеры ПОМ могут обладать различными физическими и химическими свойствами [36]. В связи с этим, в качестве строительных блоков они могут служить основой для синтеза новых функциональных материалов с заданными свойствами. В настоящее время ПОМ представляют большой интерес для нанохимии, химии функциональных материалов, и создания молекулярных устройств [37–40] и сенсоров [41, 42]. Химия комплексных полиоксометаллатов является одним из перспективных современных направлений в области неорганического синтеза, так как дает возможность, исходя из взаимосвязи свойств, строения и состава, осуществлять целенаправленный синтез материалов с заданными свойствами.

### ***1.1.1. Понятие ПОМ. Методы синтеза***

С точки зрения состава и строения ПОМ представляют собой многоцентровые группировки оксоанионов переходных металлов с общей формулой  $\{MO_x\}_n$ , где М - атом металла (W, Mo, V, реже Nb, Ta), а  $x=4-7$  [43]. В целом, кластеры ПОМ обычно являются анионными, благодаря чему могут образовывать комплексы с катионами-линкерами, которые могут включать структуры с гетероатомом. Также кластеры ПОМ могут образовывать лакунарные структуры, в которые некоторые атомы кластера удалены, а сформированные вакансии заполнены различными атомами линкеров.

Комплексы ПОМ образуются в процессе самосборки, представляющие собой конденсацию структурных блоков  $\{MO_x\}$ , которым можно управлять путем варьирования большого числа экспериментальных параметров, таких как pH, температура, ионная сила, концентрация и природа иона металла и т.д. [44–58]. Протонирование ионов оксометаллатов в определенных условиях приводит к конденсации с образованием полианиона:



Полиоксометаллаты могут включать в свою структуру большинство атомов металлов и неметаллов в качестве гетероатомов. Чаще всего синтез ПОМ происходит в водной среде, однако в ряде случаев сборка кластеров может происходить и в неводной среде или даже в твердой фазе (например, в минералах) [59, 60]. Стабильность ПОМ в водных и неводных средах, как правило, оценивают в зависимости от их способности сохранять свою структуру без разложения или трансформации в другие формы. Однако при определенных условиях полиоксосоединения все-таки могут подвергаться превращениям. Изучение

процессов разложения и трансформации ПОМ в растворах привело к созданию методов стереоспецифичного синтеза замещенных полиоксометаллатов из лакунарных комплексов [61, 62].

### 1.1.2. Классификация ПОМ

Согласно одной из классификаций, предложенной группой Cronin [37], ПОМ можно разделить на три основных класса. Если в процессе конденсации участвуют одинаковые фрагменты  $\{MO_x\}$ , то в ходе реакции образуется *изополианион (ИПА)* с общей формулой  $\{M_nO_{(4n-m)}^{(2n-m)-}\}$ , представляющий собой трехмерный каркас из атомов металла и кислорода. Как правило, для ИПА характерна степень конденсации  $n \geq 6$  [36], высокий заряд, при этом сформированные атомами кислорода поверхности обладают сильноосновными свойствами, что делает их перспективными для использования в качестве строительных блоков для синтеза [63].

Если в реакции синтеза помимо блоков  $\{MO_x\}^{n-}$ , содержащих атом металла, принимают участие гетероанионы, то происходит сборка кластера ПОМ вокруг центрального гетероатома ( $X=S, Se, As, P, Ge$  и т.п.) с образованием *гетерополианиона (ГПА)* с общей формулой  $\{X_sM_nO_m^{-y}\}$ . ГПА представляют собой наиболее изученный класс кластеров ПОМ. Как правило, гетерополисоединения (ГПС) более стабильны, чем соответствующие им изополисоединения [64, 65].

В литературе отмечается, что образование ГПА, как правило, регулируется кинетическим, а не термодинамическим фактором [61]. Любой ГПА можно охарактеризовать отношением числа атомов металла к числу гетероатомов  $M/X$ , которое собственно определяет структуру комплекса. В структуре таких комплексов могут содержаться различные по природе атомы металла  $M$  и гетероатомы  $X$  с различным соотношением  $M/X$ , что обуславливает огромное разнообразие таких соединений. Как правило, ионы ГПС содержат в своей структуре некоторое количество молекул воды [36].

Некоторые кластеры ПОМ могут обладать довольно жесткой структурой, что позволяет создавать комплексы с одной или несколькими вакансиями. Такие структуры в дальнейшем могут быть соединены между собой посредством электрофильных фрагментов в более крупные агрегаты. Как уже отмечалось, подобный планируемый синтез ансамблей позволяет создавать на основе ПОМ материалы с прогнозируемыми и заданными свойствами. Изучение лакунарных ПОМ, основанных на структурах Кеггина  $\{M_{12-n}\}$  и Доусона  $\{M_{18-n}\}$  является перспективной областью научных исследований [66].

Как правило, центральный гетероанион имеет тетраэдрическое строение (например, сульфат-, фосфат-анионы). Однако встречаются ГПС с гетероанионом нететраэдрической структуры. Это могут быть гетероанионы октаэдрического строения  $\{XO_6\}$ , как в структурах типа Андерсона  $\{XM_6O_{24}\}$ , или включенные в ячейку со структурой Доусона  $\{W_{18}O_{54}\}$  (например, соединение на основе вольфрама и перйодата  $[H_3W_{18}O_{56}(IO_6)]^{6-}$  [67, 68]), пирамидального строения (например, сульфит-анион в комплексе типа  $[Mo_{18}O_{54}(SO_3)_2]^{6-}$  [69, 70]). ПОМ с нетипичным (нететраэдрическим) строением гетероаниона существуют, в основном, для кластеров на основе вольфрама благодаря тому, что такие структуры менее лабильны и обладают большей жесткостью [71–75]. В литературе встречаются работы, посвященные синтезу ПОМ на основе молибдена [76, 77], ванадия [78–82], палладия [83–85] и смешанных ванадато-молибдатных кластеров [86–89].

Огромное число работ направлено на изучение каталитической активности гетерополисоединений, причем особое внимание уделяется кластерам со структурой Кеггина  $[XM_{12}O_{40}]^{n-}$  и Уэллса-Доусона  $[X_2M_{18}O_{62}]^{n-}$ , где М – атом металла, а X – тетраэдрический темплат [37].

Очевидно, что в процессе самосборки как ИПА, так и ГПА, могут выступать одновременно оксоанионы металлов различной природы. В ходе такого синтеза формируются смешанные ПОМ, которые образованы двумя и более типами атомов металла [90].

К третьему классу ПОМ Cronin [37] предложил отнести *восстановленные кластеры молибденового синего и молибденового коричневого*, состав и структура которых были установлены только в 1995 г. группой Muller [91, 92] при кристаллизации из раствора молибденовой сини многоядерных кластеров  $\{Mo_{154}\}$  с кольцевым строением. При изменении рН, количества реагента-восстановителя, а также введением различных лигандов, можно получать многоядерные кластеры различной конфигурации (например, сферические комплексы  $\{Mo_{132}\}$  [93, 94]). Химия подобных многоядерных восстановленных кластеров является одной из наиболее многообещающих областей в химии ПОМ с точки зрения развития науки о наноматериалах.

### **1.1.3. Некоторые структурные типы ПОМ**

В зависимости от условий синтеза оксоанионы  $\{MO_x\}$  могут формировать структуры самого разного строения благодаря большому числу возможных комбинаций атомов металлов и гетероатомов. К настоящему моменту наиболее

изучены ПОМ со структурами Кеггина (Keggin-type) и Даусона (Dawson-type). Данные структуры характерны, в основном, для ГПС, в которых трехмерный каркас кластера построен вокруг гетроатома.

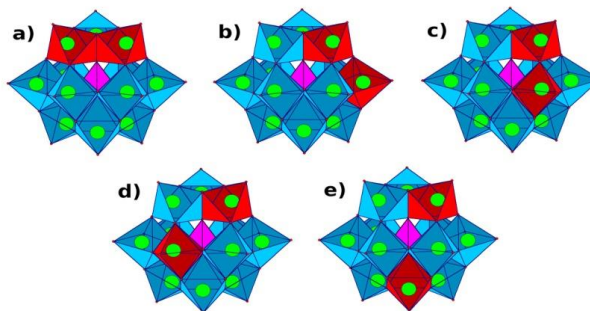
*Структура гексаметаллатов  $[M_6O_{19}]$ .* Структуры подобного типа (структура Линдквиста) представляют собой 6 октаэдров, соединенных общими ребрами по типу квадратной бипирамиды. Четыре октаэдра лежат в одной плоскости, каждый из них соединен двумя смежными ребрами с соседними октаэдрами. Два других «надстроены» с разных сторон от плоскости над центром образованного квадрата и имеют с октаэдрами квадрата – «основания» по 4 общих ребра. Все 6 октаэдров имеют одну общую вершину, расположенную в центре образованной структуры. К данному типу структур относятся анионы  $[Nb_6O_{19}]^{8-}$ ,  $[Ta_6O_{19}]^{8-}$ ,  $[Mo_6O_{19}]^{2-}$ ,  $[W_6O_{19}]^{2-}$ , а также некоторые смешанные комплексы  $[V_2W_4O_{19}]^{4-}$ ,  $[Nb_3W_3O_{19}]^{5-}$  и некоторые восстановленные комплексы  $[HV_2W_4O_{19}]^{5-}$ . Для смешанных комплексов существует возможность пространственной изомерии.

*Гетероатомы с октаэдрическим окружением  $[XM_6]$ .* Структуры, построенные из 7 оксоанионов, можно разделить на два основных типа. К первому типу ( $[M_7O_{24}]^{n-}$ ) относятся полиоксоанионы, состоящие из одинаковых структурных фрагментов, которые имеют изогнутую структуру (например  $[Mo_7O_{24}]^{6-}$ ) Ко второму типу относятся плоские полианионы, построенные вокруг некоторого гетероаниона  $[XM_6]$  (структура Андерсона). Таким строением обладают огромное количество ГПА с гетероатомами в различных степенях окисления: +2, +3, +4, +6, +7.

*Структура Кеггина.* К структурному типу Кеггина, описанному в 1933г для 12-вольфрамофосфорной кислоты, относится огромное количество ГПС: в основе структуры - центральный тетраэдр  $\{XO_4\}$ , который окружен 12 октаэдрами  $\{MO_6\}$ , собранными в 4 группы  $\{M_3O_{13}\}$ . В данных группах (триплетах) октаэдры связаны между собой ребрами, и каждый триплет соединен с центральным тетраэдром  $\{XO_4\}$  и между собой вершинами (рис. 1.1).

Структура Кеггина характерна для большинства гетерополивольфрамов, многих гетерополимолибдатов и смешанных комплексов. Для некоторых гетеровольфрамов ( $X=Bi, Si, Ge$ ) и гетеролибдатов ( $X=Si, Ge, P, As$ ) известны структурные изомеры, которые образуются из основной структуры поворотом одного или нескольких из четырех фрагментов  $\{M_3O_{13}\}$  на  $60^\circ$ .  $\beta$ -структура соответствует повороту одного фрагмента  $\{M_3O_{13}\}$ ,  $\gamma$ -,  $\delta$ - и  $\varepsilon$ -структуры соответствуют повороту двух, трех и всех четырех фрагментов соответственно.

Для упомянутых смешанных комплексов (например,  $[\text{PV}_x\text{Mo}_{12-x}\text{O}_{40}]^{-(3+x)}$ ) для каждого из структурных изомеров могут существовать позиционные изомеры, которые различаются положением атомов-аддендов в структуре. Например,  $\alpha$ - $[\text{PV}_2\text{Mo}_{10}\text{O}_{40}]^{4-}$  имеет 5 позиционных изомеров (рис. 1)



**Рис. 1.** Изомеры положения для комплекса  $\alpha$ - $[\text{PV}_2\text{Mo}_{10}\text{O}_{40}]^{4-}$

Как и для остальных структурных типов ПОМ, для структуры Кеггина возможно существование лакунарных комплексов, то есть структур с отсутствием одного или нескольких октаэдрических фрагментов. Образовавшиеся вакансии могут быть заполнены либо фрагментами другой природы, либо приводят к соединению нескольких кластеров в один с образованием новой структуры. При соединении двух ГПА с тремя отсутствующими октаэдрами происходит образование *структуры Доусона (Dawson structure)*  $[\text{X}_2\text{M}_{18}\text{O}_{62}]^{n-}$ .

*Структуры типа  $\text{X}_2\text{M}_5$  и  $\text{X}_2\text{M}_6$ .* Структура типа  $[\text{X}_2\text{M}_5]$  представляют собой кольцо из соединенных между собой октаэдров  $\{\text{MO}_6\}$ , закрытое сверху и снизу тетраэдрами гетерополианионов  $\{\text{XO}_4\}$ . К такому типу можно отнести соединения  $[\text{S}_2\text{Mo}_5\text{O}_{21}]^{4-}$  и  $[\text{Se}_2\text{Mo}_5\text{O}_{21}]^{4-}$ . Структура  $[\text{X}_2\text{M}_6]$  представляет собой кольцо из шести октаэдров  $\{\text{MO}_6\}$ , соединенных ребрами между собой, которое также сверху и снизу закрыто тетраэдрами  $\{\text{XO}_4\}$ .

*Структура  $[\text{XM}_{12}\text{O}_{42}]$ .* В основе структуры лежит икосаэдрический гетероанион, окруженный фрагментами  $\{\text{MO}_6\}$ , соединенными гранями в пары. Фрагменты  $\{\text{M}_2\text{O}_9\}$  соединены друг с другом вокруг центрального икосаэдра вершинами.

## 1.2. Методы изучения ПОМ

Благодаря значительному прогрессу в области приборостроения и скачкообразному развитию технологий, в том числе и в области аналитической химии, с конца XX века инструментальные методы анализа приобрели главенствующую роль в исследовании полиоксоанионов. Это относится как к способам определения химического и фазового состава, так и к определению структуры соединений, при этом идентификация различных ПОМ, определение их состава и структуры весьма важны для развития методологии синтеза, оптимизации условий прогнозирования свойств продуктов.

К настоящему времени рентгеноструктурный анализ и ЯМР-спектроскопия прочно заняли свою нишу в изучении соединений подобного типа [95–98]. Весьма многообещающим методом анализа ПОМ в последние годы становится и масс-спектрометрия, важными особенностями которого является селективность. Все перечисленные методы являются основополагающими для характеристики структуры ПОМ и их стабильности в растворе.

*ЯМР-спектроскопия.* ЯМР – один из наиболее важных методов изучения ПОМ в растворах, с точки зрения особенностей структуры и динамики превращений. Распространенность этого метода в химии ПОМ объясняется тем, что многие элементы, входящие в состав полиоксоанионов, обладают способностью генерировать ЯМР-сигналы (например,  $^1\text{H}$ ,  $^{11}\text{B}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{27}\text{Al}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{29}\text{Si}$ ,  $^{51}\text{V}$ ,  $^{59}\text{Co}$ ,  $^{93}\text{Nb}$ ,  $^{95}\text{Mo}$ ,  $^{181}\text{Ta}$ ,  $^{183}\text{W}$ ). Однако метод протонно-магнитного резонанса в исследовании неорганических полиоксометаллатов имеет ограниченное значение из-за быстрого обмена с молекулами растворителя. Резонанс на ядрах  $^{17}\text{O}$  широко используется для изучения медленных процессов кислородного обмена, определения места протонирования и установления структуры комплексов [1].

Несмотря на универсальность, ЯМР обладает рядом ограничений. Надежность спектров ЯМР во многом зависит от лабильности полианиона, его способности трансформироваться или разрушаться в растворах. Зачастую из-за сложности интерпретации спектров из данных ЯМР могут быть сделаны ошибочные выводы. Интерпретация спектров, особенно для растворов ПОМ, весьма трудоемка и неоднозначна. Кроме того, метод ЯМР нельзя применять для изучения тех компонентов, которые не содержат в своем составе ЯМР-активные ядра. В любом случае необходимо подтверждение полученных данных независимым методом. При этом существует еще и проблема выбора подходящего растворителя, что обусловлено низкой растворимостью некоторых ПОМ, и проблемы, связанные с низкой



чувствительностью метода, что ограничивает применимость ЯМР для идентификации и исследования комплексов, концентрация которых в равновесной смеси мала.

*Рентгеноструктурный анализ.* Данные рентгеноструктурного анализа до сих пор остаются основным источником получения информации о структуре ПОМ. Этот метод применим как для твердых соединений, так и для концентрированных растворов [1]. Однако для корректного исследования структуры необходим кристалл достаточного размера, содержащий одну фазу, выделить который из раствора удается не всегда. Кроме этого, возможно ошибки при установлении правильной структуры из-за эффекта упаковки и возможных дефектов кристалла.

Основной проблемой до сих пор остается идентификация компонентов и установление структуры частиц в растворе. Результаты, полученные для растворов, могут отличаться от результатов для твердого соединения из-за различий в строении частиц в твердой фазе и в растворе, а также вследствие того, что в растворах ПОМ различные формы нередко находятся в равновесии друг с другом. Метод рентгеноструктурного анализа, впрочем, как и большинство других, не позволяет оценить степень протонирования полианионов.

*Масс-спектрометрия.* Масс-спектрометрия является одним из мощнейших инструментов среди современных методов исследования полиоксосоединений [37]. В отличие от кристаллографического рентгеноструктурного анализа, МС-анализ в принципе позволяет судить о степени протонирования полиоксоанионов в растворе, так как дает прямую информацию о составе изучаемых комплексов [99, 100]. Масс-спектрометрия может использоваться для изучения ПОМ смешанного состава, содержащих более чем один типа томов металла [68], а также для исследования процессов, происходящих с ПОМ в растворах, сопровождающихся формированием промежуточных форм, образование которых возможно в процессе сборки или распада того или иного комплекса [101].

Все более широкое распространение для исследования ПОМ находят такие разновидности масс-спектропии, как cryospray-ionization-MS (**CSI-MS**) [101], electrospray-ionization-MS (**ESI-MS**) [102], matrix-assisted-laser-desorption MS (**MALDI-MS**), fast-atom-bombardment MS (**FAB-MS**). Важно, что некоторые из упомянутых разновидностей масс-спектропии применимы для изучения нестабильных комплексов.

Тем не менее, возможности масс-спектропии для изучения полиоксосоединений также ограничены для образцов, представляющих сложную смесь различных компонентов, которые находятся в динамическом равновесии друг с

другом. Так как для ПОМ не существует библиотек МС-спектров, интерпретация полученных результатов сопряжена со значительными сложностями, обусловленными сложностью самих масс-спектров.

*Другие методы изучения ПОМ.* Значительно реже в практике исследования полианионов применяют циклическую вольтамперометрию [103], потенциометрическое титрование [104], ИК-спектроскопию [105, 106], фотолюминисцентные и электролюминисцентные методы [107]. Использование этих методов постепенно отходит на второй план, однако их результаты могут дать важную информацию о превращениях ПОМ в растворах, их каталитической активности и т.п.

### ***1.2.1. Сепарационные методы исследования ПОМ***

Полиоксометаллаты могут образовывать в растворе различные формы, пути превращения которых зависят от условий (например, от концентрации и состава среды). Нередко растворы ПОМ представляют собой сложные смеси, в которых между компонентами устанавливается динамическое равновесие. Состав смесей зависит от условий, таких, как рН, температура, ионная сила, присутствие органического компонента и т.п. Исследование таких смесей и наблюдение за процессами трансформации в растворах требует специальных методов и подходов, поэтому интерпретация полученных данных затруднена. В связи с этим представляется целесообразным применение сепарационных методов для исследования растворов ПОМ. Высокоэффективная жидкостная хроматография и газовая хроматография в настоящее время являются наиболее широко применяемыми сепарационными методами, которые позволяют за короткое время провести качественное и количественное определение широкого круга веществ в объектах различной природы. Области применения данных методов ограничиваются, прежде всего, требованиями, предъявляемыми к исследуемым образцам.

В случае ГХ компоненты анализируемой смеси должны обладать достаточной летучестью, быть термостабильными и т.п. Если дело касается анализа нелетучих веществ, то применение ГХ невозможно в принципе, за исключением тех случаев, когда компоненты исследуемого образца можно подвергнуть дериватизации с целью получения летучих форм. ВЭЖХ в ион-парном и ионообменном вариантах, в принципе, подходит для разделения ПОМ, хотя также имеет ряд ограничений. Так, разделяемые вещества должны обладать достаточной растворимостью в подвижной фазе и не образовывать осадков с веществами, входящими в ее состав. Нередко

ограничения связаны со свойствами используемых в ВЭЖХ неподвижных фаз (**НФ**) на основе силикагеля – а именно, с его относительно невысокой устойчивостью в сильноокислых и сильнощелочных средах, сильным взаимодействием с разделяемыми компонентами и компонентами элюентов. При использовании неподвижных фаз на основе органических полимеров также возникает ряд проблем, связанных с набуханием и снижением эффективности, а также с меньшей устойчивостью к высоким давлениям и относительно быстрым «старением» фазы.

Разделение сложных многокомпонентных смесей, в частности, биологического происхождения, невозможно классическими методами ВЭЖХ из-за недостаточной эффективности метода. Однако применение более эффективной техники, такой как капиллярная жидкостная хроматография, требует серьезной модификации приборного оснащения [128–130]. Альтернативным методом, пригодным для исследования растворов ПОМ, является капиллярный электрофорез и его возможные варианты.

### ***1.2.2. Жидкостная хроматография***

Для исследования полиоксосоединений применяли различные варианты хроматографии. В работах Taguchi описан метод тонкослойной хроматографии (**ТСХ**) [110], а одним из первых исследований по применению ВЭЖХ для изучения ПОМ можно считать работу [111]. Однако авторами из-за низкой стабильности комплексов не было достигнуто достаточно хорошее разделение компонентов. Одним из первых примеров удачного использования ВЭЖХ для разделения ПОМ является работа Braungart и Russel [108], в которой была продемонстрирована возможность разделения нескольких ГПС методом нормально-фазовой ВЭЖХ (**НФ-ВЭЖХ**) на модельных смесях.

Некоторые исследования комплексов ПОМ методами жидкостной хроматографии в литературе были описаны ранее [108, 112–116]. Так, в [108] показана возможность успешного обращено-фазового ВЭЖХ (**ОФ-ВЭЖХ**) разделения ионных ассоциатов ГПА с органическими аминами на примере гетерополимолибдатов мышьяка, кремния, фосфора. В работах [113] и [116] представлены результаты экспериментов по разделению модельных смесей комплексов ПОМ с различными зарядами, которые варьировались в широких пределах, на примерах смешанных гетерополивольфраматов. Значительная часть работ посвящена использованию ВЭЖХ для определения того или иного элемента в виде ГПС [112–115]. Однако применение жидкостной хроматографии в исследовании

ПОМ имеет ряд ограничений. Так, для НФ-ВЭЖХ существует затруднение, связанное с попаданием воды в элюент из вводимого объема пробы [117], что ограничивает возможность исследования водных растворов. Поэтому чаще всего для изучения ПОМ применяют ион-парную обращенно-фазовую (ОФ-ИП-ВЭЖХ) и ионообменную ВЭЖХ.

В литературе данные о применении ионообменной хроматографии для разделения полиоксометаллатов отсутствуют, в то время как наибольшее распространение для исследования подобных смесей из всех сепарационных методов получила ИП-ОФ-ВЭЖХ. Существует две модели, описывающие механизм разделения ионов в ион-парной ВЭЖХ. Согласно одной из них при введении ион-парного реагента (для разделения анионов – чаще всего катионы четвертичных аммониевых оснований) происходит образование ионных пар, которые могут удерживаться на поверхности обращенной фазы (например, модифицированного  $C_{18}$  силикагеля) за счет гидрофобных взаимодействий. Согласно другой модели [118, 199], ион-парный реагент модифицирует неподвижную фазу, формируя на поверхности слой положительно заряженных групп (например, аминогрупп) [120]. Ряд авторов [121–124] отмечает более высокую эффективность и экспрессность ион-парного варианта ВЭЖХ по сравнению с ионообменным вариантом при разделении заряженных неорганических и металлоорганических ионов.

Режим ИП-ОФ-ВЭЖХ удобен тем, что с его помощью можно изучать водные растворы полиоксометаллатов. Однако, как уже отмечалось, для обеспечения стабильности некоторых разделяемых компонентов (например, лакунарных комплексов), нередко требуется введение в состав подвижной фазы органического ион-парного компонента (например, органического амина). Как и в случае НФ-ВЭЖХ, это приводит к формированию более устойчивых ионных ассоциатов. Однако авторы [108] отмечают, что при возрастании концентрации органического амина в элюенте, ПОМ подвергаются деструкции вследствие увеличения рН среды. Таким образом, при использовании органических добавок с одной стороны необходимо, чтобы концентрация амина была достаточна для формирования ионных ассоциатов или модификации поверхности неподвижной фазы (НФ), а с другой стороны – разделяемые компоненты должны быть устойчивы при рН, величина которого в свою очередь определяется концентрацией ион-парного реагента.

Важным преимуществом ВЭЖХ является возможность ее использования в сочетании с элемент-селективными детекторами, например, масс-спектрометрическим или атомно-эмиссионным. Применение детекторов подобного

типа в случае КЗЭ ограничено вследствие малого объема вводимой пробы и отсутствия ощутимого потока жидкости в системе. Например, использование атомно-эмиссионной спектроскопии в случае КЭ практически невозможно из-за весьма малых объемов пробы, вводимой в капилляр (около нескольких нл), в то время как для анализа раствора методом ИСП-АЭС необходимы объемы порядка нескольких мл.

### ***1.2.3. Капиллярный электрофорез***

Перспективным инструментом для исследования ПОМ является капиллярный электрофорез, демонстрирующий большую эффективность разделения по сравнению с ВЭЖХ. В литературе крайне мало работ, посвященных применению КЭ для разделения смесей полиоксоанионов. Большинство этих работ посвящено определению химических форм элементов в виде гетерополианионов, в которые их переводят путем дериватизации молибдатом или вольфраматом для увеличения коэффициента молярного поглощения (за счет образования  $[XM_{12}O_{40}]^{n-}$ , где X – гетероэлемент, M–Mo, W), сопровождающегося возрастанием чувствительности фотометрического детектирования [125–127]. Практически полное отсутствие работ, связанных с использованием КЭ и его модификаций для анализа ПОМ, связано, прежде всего, с низкой растворимостью и нестабильностью ряда ПОМ в водных растворах, применяемых при разделении методом капиллярного электрофореза [128]. Для повышения стабильности ПОМ в состав электрофоретического буфера нередко вводят органический растворитель, например, ацетонитрил. При этом электрофореграммы растворов ПОМ являются более сложными по сравнению с хроматограммами, то есть количество пиков, регистрируемое методом КЭ, как правило, больше, чем в случае ВЭЖХ. Подобный эффект может быть связан с разложением некоторых ПОМ в ходе КЭ разделения. Отмечено, что поведение некоторых ПОМ в ходе ВЭЖХ и КЭ анализа может отличаться, и причины этого до сих пор не установлены.

Несмотря на нестабильность некоторых полиоксометаллатов в условиях ВЭЖХ и КЭ-разделения, именно сепарационные методы наиболее перспективны для изучения особенностей поведения ПОМ и их равновесных форм в растворе. Они дают возможность разделения смесей ПОМ и идентификации компонентов, обладающих сходными свойствами, что может быть затруднительно при анализе смесей другими методами.

#### 1.2.4. Исследование ПОМ методом КЭ

Современные системы капиллярного электрофореза представляют собой перспективный метод изучения состава сложных многокомпонентных смесей. Долгое время одним из главных затруднений, характерных для данного метода, являлось уширение зон разделяемых веществ из-за конвекции, возникающей при выделении тепла при протекании электрического тока в капилляре. Использование стабилизаторов, таких, как гель или бумага, позволило нивелировать конвекцию [131]. Первым упоминанием об использовании трубок для разделения можно считать работы Mikkers, Everaerts и Verheggen [132]. Главным преимуществом нового подхода стало то, что в капилляре конвекция в разделительной среде подавляется «эффектом стенок»: вязкая среда, будучи замкнутой в небольшом объеме капилляра, перемешивается весьма незначительно. Ключевыми работами в развитии современного капиллярного электрофореза, в котором разделение проводится в кварцевом капилляре малого диаметра, можно считать работы группы Jorgenson [133]. Применение капилляров малого диаметра позволяет быстро отводить тепло, выделяющееся при протекании тока, в результате чего практически нивелируется уширение пика, возникающее из-за тепловой диффузии.

Значительное уменьшение диаметра разделительного капилляра и использование прямого УФ-детектирования вместо ранее применяемого кондуктометрического стали основными предпосылками дальнейшего быстрого развития метода.

*Принцип метода.* Метод капиллярного электрофореза основан на разделении заряженных компонентов смеси в капилляре малого диаметра под действием приложенного электрического поля.

Типичная схема установки, для проведения разделений методом КЭ, представлена на рис. 2.

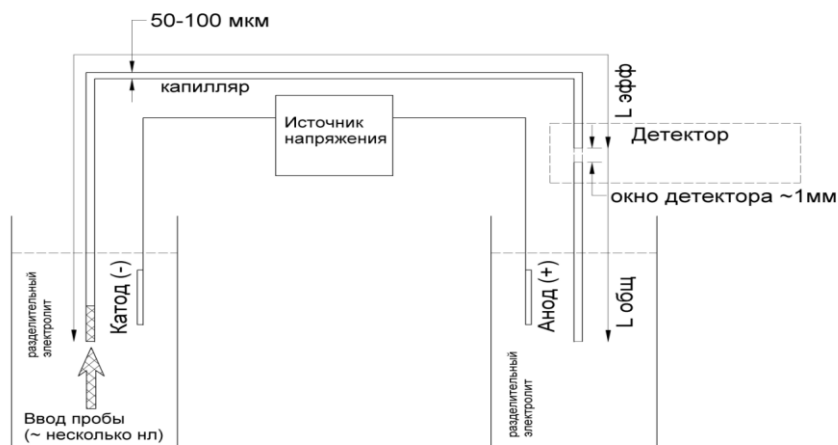


Рис. 2. Принципиальная схема системы КЭ

Основным структурным элементом прибора является разделительный капилляр из кварца, заполненный электролитом, концы которого погружены в сосуды с буферным раствором. При наложении электрического поля, направленного вдоль капилляра, заряженные частицы (компоненты пробы) начинают перемещаться вдоль направления поля под действием кулоновских сил. Наиболее распространенный вариант детектирования, прямое УФ-детектирование, возможно проводить непосредственно в потоке внутри кварцевого капилляра, прозрачного в зоне ближнего ультрафиолета [133]. В процессе разделения аналиты движутся с разной скоростью вдоль капилляра, в результате чего формируется последовательность аналитических сигналов в виде пиков, которая называется электрофореграммой.

Разделение, как правило, проводят в капиллярах с внутренним диаметром 25–100 мкм, которые заполнены разделительным электролитом. Как уже упоминалось, использование капилляров несет в себе несколько преимуществ. Значительное сопротивление капилляра позволяет использовать высокие напряжения для разделения, при этом количество выделяющегося тепла будет мало, что позволяет добиваться быстрого и эффективного разделения.

Характеристической величиной в КЭ является электрофоретическая подвижность компонентов, скорость движения которых помимо величины напряженности приложенного поля зависит от заряда частиц  $z$  и их гидродинамического радиуса  $r$  (с учетом сольватной оболочки). Зависимость скорости движения от этих величин выражается формулой:

$$v = \mu E = \frac{zFE}{6\pi r\eta N_a} \quad (1),$$

где  $v$  – скорость движения иона,  $\mu$  – величина, называемая электрофоретической подвижностью иона ( $\mu = \frac{zF}{6\pi r\eta N_a}$ ),  $z$  – эффективный заряд иона,  $r$  – стоксов радиус частицы,  $E$  – напряженность электрического поля (В/см),  $\eta$  – вязкость среды,  $N_a$  – число Авогадро,  $F$  – число Фарадея.

Экспериментальные значения подвижностей, как правило, отличаются от теоретических:  $\mu_{eff} = \alpha\mu$ , где  $\alpha$  – степени ионизации (диссоциации) молекул, при этом экспериментальные значения подвижности зависят от внешних условий: pH, состава разделительного электролита и т.д. [134]. Эффективную электрофоретическую подвижность можно рассчитать из экспериментальных данных, а именно: времени миграции, напряжения, общей и эффективной длин капилляра:

$$\mu = \frac{v}{E} = \frac{L_{эфф}}{Et_M} = \frac{L_{общ}L_{эфф}}{Ut_M} \quad (2),$$

где  $t_m$  – время миграции,  $L_{эфф}$  – длина капилляра до детектора,  $L_{общ}$  – общая длина капилляра,  $U$  – напряжение разделения.

*Электроосмотический поток.* При разделении в кварцевом капилляре формируется электроосмотический поток (ЭОП) [135–141], который представляет собой пассивное движение жидкости в капилляре, возникающее как результат формирования поверхностного заряда на его внутренней поверхности вследствие диссоциации силанольных групп. При этом на поверхности формируется двойной электрический слой (ДЭС) и между поверхностью капилляра и объемом раствора возникает  $\zeta$ -потенциал. Под действием внешнего электрического поля, направленного параллельно поверхности капилляра, ионы из подвижного (диффузионного) слоя начинают двигаться вдоль оси, таким образом, возникает движение жидкости, которое можно приближенно описать уравнением Гельмгольца:

$$v_{ЭОП} = \frac{\varepsilon E \zeta}{4\pi\eta} \quad (3),$$

где  $v_{ЭОП}$  – скорость ЭОП,  $\varepsilon$  – диэлектрическая проницаемость среды,  $\zeta$  – величина  $\zeta$ -потенциала,  $\eta$  – вязкость среды. Для учёта ЭОП в потоках пользуются т.н. подвижностью ЭОП  $\mu_{ЭОП} = \varepsilon\zeta/4\pi\eta$ .

Формирующийся поток обладает плоским профилем, в отличие от профиля потока в жидкостной хроматографии, где движение жидкости описывается уравнением Хагена-Пуазейля [142]. Благодаря этому уширение пиков в случае КЭ значительно меньше, чем в случае ВЭЖХ, что и обуславливает большую эффективность электрофоретического разделения. Влияние ЭОП становится более или менее значительным при рН выше 4 [134]. Следует отметить, что явление ЭОП возникает также на поверхности других материалов (тефлон) за счет адсорбции заряженных частиц на поверхности [143]. Величина ЭОП зависит от рН среды, состава электролита, свойств поверхности капилляра и прочих внешних условий. При адсорбции на поверхности капилляра катионных ПАВ можно либо уменьшить поток (при адсорбции одного слоя), либо обратить направление ЭОП (при адсорбции двойного слоя катионных ПАВ и формировании на поверхности положительного заряда).

Скорость миграции компонентов пробы является суперпозицией скоростей собственной электрофоретической миграции и скорости электроосмотического потока:

$$\vec{\mu} = \vec{\mu}_i + \vec{\mu}_{ЭОП} \quad (4),$$



где  $\mu$  - результирующая подвижность,  $\mu_i$  – собственная электрофоретическая подвижность,  $\mu_{ЭОП}$  – подвижность, соответствующая ЭОП. Время миграции определяется характеристической константой подвижности ионов и вкладом электроосмотического потока:

$$v = \frac{L_{эфф}}{t_m} = E(\mu_i + \mu_{ЭОП}) \quad (5),$$

где  $L_{эфф}$  – длина капилляра до окна детектора.

*Уширение зон в КЭ.* Как и в хроматографических методах, в КЭ имеет место процесс уширения зон в ходе миграции. Для описания данного явления в КЭ используют два подхода. Первый подход, по сути, представляет собой теорию теоретических тарелок, принятую в ВЭЖХ [144, 145]. Второй подход состоит в решении системы уравнений, включающих в себя уравнение неразрывности и некоторые другие, описывающих концентрацию компонентов пробы в зависимости от времени и координаты в пространстве [146].

В табл. 1 перечислены основные причины уширения зон компонентов в капиллярном электрофорезе.

Т а б л и ц а 1

### Основные причины уширения пиков в КЭ

Причина уширения	Особенности
Продольная (молекулярная) Диффузия.	Так как полностью устранить молекулярную диффузию нельзя, то этот вклад определяет идеальный предел эффективности.
Джоулево тепло.	Приводит к образованию в капилляре радиального градиента температуры и формированию профиля потока параболической формы [147–171].
Начальная ширина вводимой зоны.	Определяет ширину пика в начальный момент времени. Чем меньше начальная ширина, тем выше эффективность.
Адсорбция пробы на стенках капилляра.	Приводит к затягиванию заднего фронта пика, искажению его формы и уменьшению эффективности [172–175].
Различная проводимость зоне пробы и электролита (электродисперсия).	Пробы с более высокой проводимостью по сравнению с электролитом приводят к затянутому переднему фронту пика, пробы с меньшей проводимостью приводят к затянутому заднему фронту пика [176–179].
Разный уровень жидкости в резервуарах	Приводит к образованию ламинарного течения в капилляре.
Размер ячейки детектора	Должен быть мал по сравнению с шириной зоны.

Причины уширения пиков, влияние которых описано в работе:

*Продольная диффузия.* Уширение растворенной зоны может возникать из-за различий в скоростях молекул внутри самой зоны, которые возникают благодаря тепловой диффузии. Ширину пика возле основания можно определить через дисперсию ( $w_b=4\sigma$ ). Вклад продольной диффузии выражается уравнением:

$$\sigma^2 = 2Dt = \frac{2DL_{эфф}L_{общ}}{\mu U} = \frac{2DL_{эфф}}{\mu E} \quad (6),$$

где  $D$  – коэффициент диффузии растворенного вещества,  $t$  – время миграции,  $\sigma$  – стандартное отклонение.

Число теоретических тарелок может быть определено из экспериментальных данных:

$$N = 5.54 \left( \frac{t}{w_{\frac{1}{2}}} \right)^2 \quad (7),$$

где  $w_{1/2}$  – ширина пика на полувысоте,  $t$  – время выхода вершины пика. Рассчитанная таким образом эффективность ниже, чем эффективность, полученная только с учетом продольной диффузии. Это связано с тем, что существует также ряд других факторов, приводящих к уширению зоны. Кроме того, данное уравнение неприменимо к пикам неправильной формы.

*Взаимодействие компонентов пробы с поверхностью капилляра.* Явление адсорбции компонентов пробы негативно сказывается как на их разделении, так и на воспроизводимости скорости ЭОП, времен миграции компонентов, площадей и формы пиков, при этом нередко формируется затянутый задний фронт. В работе [172] отмечено, что для уменьшения размывания пика, связанного с адсорбцией на поверхности капилляра, при разделении небольших молекул с высокими коэффициентами диффузии, лучше использовать капилляры с малым внутренним диаметром. В то же время, при анализе макромолекул с высокими коэффициентами диффузии лучший результат должен получаться при использовании относительно широких капилляров.

Явление адсорбции на стенках капилляра и его влияние на эффективность и форму пика активно исследовались. В работах [173–175] были предложены математические модели, описывающие эффект адсорбции компонентов пробы.

*Другие причины уширения пиков в КЭ.* Помимо обозначенных выше причин уширения пиков в КЭ к аналогичному эффекту приводит также ламинарный поток жидкости, который возникает как следствие различия уровней жидкости в резервуарах на концах капилляра. Размер ячейки детектора также важен: чем меньше

размер ячейки, тем меньший вклад вносит размывание полосы в детекторе в общий вклад в дисперсию [146].

В целом, можно сказать, что на характеристики аналитического сигнала в КЭ влияет целый ряд параметров: условия ввода пробы, напряжение разделения, температура электролита, значения подвижностей компонентов разделительного электролита и пробы, размеры и материал капилляра, природа разделительного электролита и компонентов пробы, их концентрации. Варьируя эти параметры, можно добиться получения качественного разделения для широкого спектра веществ различной природы.

*Разновидности капиллярного электрофореза.* В табл. 2 представлены основные разновидности капиллярного электрофореза. Для каждого из методов существуют свои особенности и ограничения.

Для исследования полиоксометаллатов наиболее простым и логичным способом представляется использование капиллярного зонного электрофореза, разделение в котором основывается только на различиях в эффективных зарядах и размерах частиц, и, соответственно, можно сделать некоторые предположения относительно порядка миграции компонентов. Применения других разновидностей КЭ, в частности, с использованием ПАВ, осложняется взаимодействием разделяемых соединений с добавками к разделительному буферу.

## Основные разновидности КЭ

Метод	Особенности
<b>Капиллярный зонный электрофорез (КЗЭ)</b>	<p><b>Способ реализации:</b> в капилляр, заполненный разделительным электролитом, вводят пробу, затем на электроды подается напряжение.</p> <p><b>Принципы разделения:</b> разделяемые компоненты мигрируют с различными скоростями и формируют дискретные зоны в зависимости от значений электрофоретических подвижностей.</p> <p><b>Факторы, влияющие на разделение:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– состав разделительного электролита</li> <li>– свойства поверхности капилляра</li> <li>– параметры напряжения (значение напряжения, полярность)</li> <li>– внешние условия (температура и т.д.)</li> </ul>
<b>Мицеллярная электрокинетическая хроматография (МЭКХ)</b>	<p><b>Способ реализации:</b> присутствие в разделительном электролите ПАВ с концентрацией выше точки мицеллообразования, за счет чего в электролите образуются мицеллы, которые движутся в зависимости от заряда со- или противонаправлено с ЭОП [180].</p> <p><b>Принципы разделения:</b> компоненты разделяемой смеси (как заряженные, так и нейтральные) распределяются между мицеллами и разделительной средой.</p> <p><b>Факторы, влияющие на разделение:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– факторы, аналогичные таковым в КЗЭ</li> <li>– тип ПАВ и его концентрация [181]</li> <li>– использование различных добавок к электролиту</li> </ul>
<b>Капиллярная электрохроматография (КЭХ)</b>	<p><b>Способ реализации:</b> разделение проводят в кварцевом капилляре, заполненном неподвижной фазой.</p> <p><b>Принципы разделения:</b> В качестве движущей силы, перемещающей разделяемые компоненты и подвижную фазу вдоль колонки, выступает ЭОП [133, 182–184].</p> <p><b>Факторы, влияющие на разделение:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– тип подвижной и неподвижной фаз (влияют как на селективность и эффективность, так и на ЭОП)</li> <li>– напряжение</li> </ul>
<b>Капиллярный гель-электрофорез (КГЭ)</b>	<p><b>Способ реализации:</b> разделение проводят в капилляре, заполненном полимерной матрицей.</p> <p><b>Принцип разделения:</b> матрица полимера, представляющая собой «молекулярное сито», в котором более крупные заряженные частицы во время миграции в электрическом поле вдоль капилляра задерживаются дольше, чем мелкие.</p> <p><b>Факторы, влияющие на разделение:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– тип используемой полимерной матрицы (размер пор, структура, химическая природа молекул полимера)</li> <li>– напряжение</li> <li>– состав разделительного электролита</li> </ul>

<p><b>Капиллярная изоэлектрическая фокусировка (КИЭФ)</b></p>	<p><b>Способ реализации:</b> в капилляр вводят пробу, смешанную с раствором амфолита, при этом создается градиент рН. После формирования зоны выводятся из капилляра под действием гидравлического давления при сохранении электрического поля.</p> <p><b>Принцип разделения:</b> после приложения электрического поля в капилляре благодаря амфолиту возникает градиент рН (кислые раствор возле катода и основной раствор возле анода). Параллельно происходит миграция заряженных компонентов (белков) до тех пор, пока они не попадут в ту область капилляра, в которой они становятся незаряженными (при соответствующем значении рI) [185, 186].</p> <p><b>Факторы, влияющие на разделение:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– состав раствора амфолита</li> <li>– параметры и свойства капилляра (уменьшение ЭОП, препятствие адсорбции белков)</li> <li>– напряжение</li> </ul>
<p><b>Капиллярный изотахофорез (КИТФ)</b></p>	<p><b>Способ реализации:</b> разделение проводят в капилляре, в который поочередно вводят ведущий электролит (с наибольшей <math>\mu</math>), затем раствор пробы, и некоторое количество замыкающего электролита (с наименьшей <math>\mu</math>).</p> <p><b>Принцип разделения:</b> в ходе разделения зоны компонентов движутся под действием электрического поля как отдельные зоны с общими границами, зажатые между ведущим и замыкающим электролитом.</p> <p><b>Факторы, влияющие на разделение:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– состав ведущего и замыкающего электролитов</li> <li>– напряжение</li> </ul>

### 1.2.5. Особенности оборудования, применяемого в системах КЭ

**Капилляры.** В различных вариантах КЭ, как правило, используют кварцевые капилляры с малым внутренним диаметром. Снаружи кварцевые капилляры покрыты защитным полиимидным слоем, который придает капиллярам механическую прочность и гибкость. Для формирования окна детектирования защитный слой механически или выжиганием удаляется на том отрезке капилляра, в котором происходит детектирование. Кварц, в отличие от пластика и стекла, прозрачен в широком диапазоне длин волн, в том числе и в коротковолновой УФ-области. Некоторые капилляры имеют локальное расширение внутреннего диаметра в области окна детектирования, что увеличивает длину оптического пути при детектировании и, соответственно, повышает чувствительность детектирования. В качестве альтернативы кварцевым КЭ капиллярам рассматривались различные варианты, в том числе и полые полипропиленовые волокна с предельно низким значением ЭОП, а также стеклянные и тефлоновые капилляры.

Существуют капилляры из кварца с внутренними диаметрами от 10 до 200 мкм. но обычно используются капилляры с диаметрами от 25 до 75 мкм с наружными диаметрами 350–400 мкм. Чтобы сократить время анализа, капилляр должен быть как можно более коротким. Обычно длина варьирует от 10 см для КГЭ до 100 см при разделении сложных проб в сочетании с другими методами [142].

*Покрyтия и добавки к бyфeрy.* Модификацию внутренней поверхности капилляра можно использовать для уменьшения ЭОП и для снижения степени адсорбции компонентов пробы и компонентов разделительного электролита на стенках капилляра. Нивелирование адсорбции особенно важно при анализе биологических образцов, содержащих легко сорбирующиеся полиионы белков и прочих макромолекул. При разделении молекул меньшего размера также может потребоваться изменение свойств поверхности. Одним из способов модификации поверхности кварцевого капилляра является химическая пришивка алкильных групп при помощи реакции силанизации. Покрытие внутренней поверхности капилляра позволяет достичь лучшего разрешения, увеличения скорости анализа и лучшей воспроизводимости [187].

Одним из самых простых способов уменьшения взаимодействия аналитов со стенкой капилляра является использование электролитов с рН, при которых внутренняя поверхность кварцевого капилляра имеет положительный или отрицательный заряд и отталкивает молекулы аналитов, которые несут одноименный со стенкой заряд [189–191]. Однако наиболее эффективным способом уменьшить взаимодействие компонентов пробы со стенкой капилляра является использование различного типа деактивирующих покрытий, которые маскируют анионную и гидрофобную природу поверхности кварцевого капилляра [192–194].

В зависимости от природы связывания с внутренней стенкой покрытия капилляра можно классифицировать как динамические, статические (физически адсорбированное) и ковалентные. Динамическое покрытие обычно получают путем добавления в электролит модифицирующей поверхность добавки, чаще всего, поверхностно-активного вещества или полимера [194–196]. Использование ПАВ для модификации внутренней поверхности капилляра при анализе полиоксометаллатов невозможно, так как они могут образовывать трудно растворимые соединения.

Применение перманентного покрытия за счет адсорбции или химического взаимодействия позволяет избежать использования различных добавок в электролит. Ковалентное покрытие более устойчиво, однако для его получения требуется проведение нескольких последовательных стадий, что делает результат менее

воспроизводимым, а процесс модификации – трудоемким [197]. Кроме того, силанольная связь Si–O–C неустойчива в нейтральных и щелочных средах, что ограничивает область применения ковалентно модифицированных таким образом капилляров кислыми средами с  $pH < 5-6$ . Более стойкой является связь Si–C, однако процедура ее формирования более сложна и требует тщательного подбора и контроля условий [198]. В отличие от ковалентного связывания, способы получения физически адсорбированного покрытия более просты и экономичны. Использование поликатионов позволяет получать стабильные покрытия и стабильный ЭОП [199, 200].

В целом, ковалентную модификацию можно осуществить путем образования силановых, силоксановых и кремний-углеродных [201] связей. Модификация алкильными группами может проводиться монофункциональными реагентами, которые приводят к образованию «щеток» из алкильных групп на поверхности капилляра, или полифункциональными реагентами, которые формируют трехмерную «сетку» из алкильного реагента [202].

Модификация поверхности капилляра может достигаться теми же методами, которые описаны для модификации силикагеля для получения НФ в ВЭЖХ или модификации колонок в ГХ. Предварительный гидролиз поверхности обеспечивает достаточное количество силанольных групп, которые затем подвергаются модификации тем или иным реагентом. После этого капилляр отмывают от побочных продуктов и исходных реагентов. Присутствие воды в реакционной среде во время модификации может привести к гидролизу силанизирующего реагента и взаимодействию продуктов гидролиза силанизирующего реагента между собой. Поэтому тщательное промывание капилляра от воды после гидролиза является необходимым условием получения стабильного покрытия.

*Ввод и обогащение пробы.* В КЭ существуют несколько способов ввода пробы в капилляр, однако наиболее простой и распространенный способ – пневматический, который был реализован в данной работе.

В литературе довольно подробно рассматриваются различные способы концентрирования аналитов различной природы [203–206]. В силу того, что нами исследовались растворы, содержащие ПОМ на уровне концентраций около 0,1М, прибегать к приему обогащения не требовалось.

*Детектирование в КЭ.* Детектирование в КЭ может осуществляться в реальном времени при прохождении зон компонентов через определенную часть капилляра или на выходе из капилляра в режиме с разделением времени. В любом случае КЭ

детектирование является достаточно серьезной проблемой, так как размеры капилляра и объемы вводимой пробы, как правило, весьма малы [207].

Существует относительно немного методов детектирования в КЭ, схожих с методами, применяемыми в ВЭЖХ. Основные методы детектирования, применяемые в КЭ, суммированы в работах [208–217].

При исследовании объектов неизвестного состава наиболее информативен элемент-селективный детектор. Это касается также и изучаемых нами ПОМ. Однако, как уже упоминалось, сочетание КЗЭ с элемент-селективными детекторами либо невозможно, либо затруднительно. Масс-спектрометрия – наиболее универсальный способ детектирования, дающий информацию о составе исследуемых соединений. Однако интерпретация МС спектров может быть крайне сложной. Более удобным представляется использование атомно-эмиссионной спектрометрии, которая позволяет получить информацию об элементном составе разделяемых соединений.

Большинство систем капиллярного электрофореза оснащено спектрофотометрическим детектором. Вследствие универсальности он пригоден для регистрации широкого круга всевозможных соединений. Так как большинство ПОМ обладают достаточно интенсивным поглощением в УФ и видимом диапазоне длин волн, такой детектор позволяет регистрировать пики компонентов с достаточно высокой чувствительностью.

*УФ-детектирование* при использовании кварцевого капилляра обеспечивает возможность детектирования в области ниже 200 нм и в видимой области спектра. Однако из-за малого диаметра капилляра (малой длины оптического пути) чувствительность обнаружения низких содержаний аналитов ограничена. Кроме того, из-за кривизны капилляра средний оптический путь, как правило, меньше, чем внутренний диаметр капилляра и приводит к уменьшению чувствительности, увеличению отношения сигнала к шуму. Чувствительность также может уменьшиться из-за отклонения от закона Бугера-Ламберта-Бэра при высоких концентрациях аналита, которые влияют на величину диапазона линейности детектора. Пробы, которые не обладают поглощением в доступном для УФ-детектора диапазоне, можно обнаружить, применяя непрямой метод детектирования [209]. Для этого в буфер вводят поглощающую в УФ-области добавку, ионы которой обладают близкой к компоненту пробы подвижностью. В результате непоглощающие аналиты формируют на электрофореграмме обратные пики.

Отдельно следует упомянуть реализованный для КЭ способ элемент-селективного детектирования, а именно масс-спектрометрию. Низкие скорости



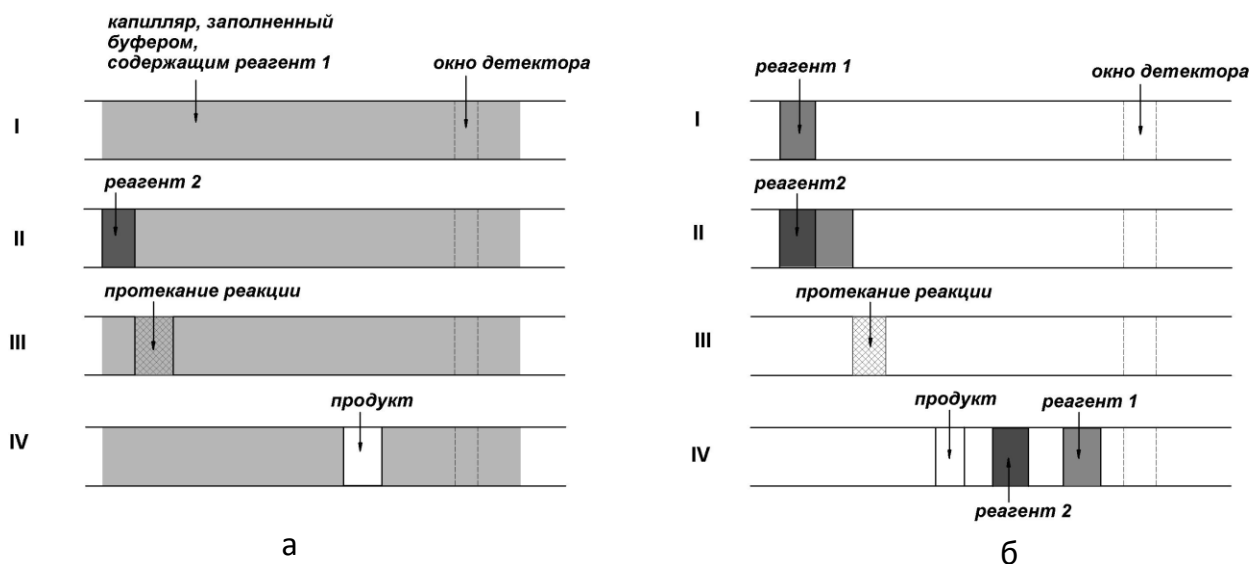
потока в КЭ делают возможным применение масс-спектрометрического детектора. Основной проблемой, тем не менее, остается состыковка системы электрофореза с масс-спектрометром. К настоящему времени электроспрей-ионизация (**ESI**) стала преобладающей методологией *on-line* сочетания потока жидкости из колонки или капилляра и масс-спектрометрического детектирования [216, 217]. Тем не менее, все большее применение находят такие способы ионизации, как химическая ионизация при атмосферном давлении (*atmospheric pressure chemical ionization*, **APCI**), фотоионизация при атмосферном давлении (*atmospheric pressure photoionization*, **APPI**), а также MALDI способы ионизации.

### **1.3. Проведение реакции внутри капилляра**

Идея использования капилляра в КЭ как микрореактора возникла в начале 90х годов XX века [218]. Данная методология, получившая название *electrophoretically mediated microanalysis* (**EMMA**) [219], была разработана для ферментного анализа. EMMA стал основным подходом для ультра-микроферментативного анализа в КЭ.

подавляющее большинство работ, посвященных EMMA, с момента разработки подхода в 1992 г. реализовано на системах, в которых участники реакции представляют собой молекулы биологического происхождения [220–234]. Опубликованы также результаты исследований [235–238] реакций комплексообразования металлов с различными реагентами. EMMA-подход также используется для дериватизации аналита в сочетании с флуоресцентным или УФ-детектированием, например, для модификации аминогруппы в аминокислотах [239–241], гидроксигруппы в углеводах [242] и т.д. Кроме того, в ряде работ [229, 243, 244] представлены подходы, основанные на математическом описании и моделировании процессов, происходящих при проведении реакции в капилляре при перемешивании двух отдельных зон.

В EMMA зоны, содержащие реагенты, пересекаются и перемешиваются внутри капилляра в ходе миграции под действием электрического поля, затем при наличии или отсутствии поля происходит химическая реакция, и в результате детектируемый продукт мигрирует к детектору. Осуществить химическую реакцию внутри капилляра можно во многих режимах в зависимости от способов взаимодействия зон, параметров ввода образца и зависимости приложенного напряжения от времени. Можно выделить два основных способа реализации EMMA [230]: EMMA с *непрерывным взаимодействием* (рис. 3, А) и EMMA с *временным взаимодействием* (рис. 3, В).



**Рис. 3.** Два варианта EMMA: EMMA с непрерывным взаимодействием (а), EMMA с временным взаимодействием (б)

*EMMA с непрерывным взаимодействием.* В варианте с непрерывным взаимодействием капилляр заполняется разделительным электролитом, содержащим в составе один из реагентов (стадия I на рис. 3), затем происходит ввод зоны, содержащей второй реагент (стадия II), и под действием приложенного напряжения происходит одновременная миграция реагента и протекание реакции (стадия III). Реакция идет непрерывно и продолжается до тех пор, пока не закончится один из реагентов и не сформируется зона, содержащая продукт (стадия IV), или пока оставшееся количество реагента, введенного в капилляр в виде пробки, не выйдет из капилляра в результате миграции.

Выделяют два варианта проведения EMMA с непрерывным взаимодействием [245]. В первом случае реакция и разделение проводятся одновременно при постоянном приложенном потенциале (*режим постоянного потенциала*). Из-за того, что скорость образования продукта, как правило, значительно больше скорости электрофоретического разделения образующегося продукта и исходного компонента, продукт формирует на получаемой электрофореграмме сигнал в форме плато. Во втором варианте (*режим нулевого потенциала*) продукт накапливается некоторое время при нулевом потенциале, затем происходит отделение сформировавшегося продукта и его перенос к детектору под действием приложенного поля. В этом варианте профиль сигнала продукта имеет выраженный пик. Данный метод более чувствителен по сравнению с режимом постоянного потенциала [218].

EMMA с непрерывным взаимодействием является весьма чувствительной техникой проведения анализа и используется в тех случаях, если требуется

максимальная конверсия реагента в регистрируемый продукт [245]. Чаще всего ЕММА с непрерывным взаимодействием связан с изучением ферментативных реакций [236–254], а также для определения форм элементов путем их дериватизации, (например, [255]) или для дериватизации аминокислот [219, 243, 246]. В последних статьях авторы называют такой подход техникой «*throughout-capillary*».

*ЕММА с временным взаимодействием (plug-plug)*. В режиме ЕММА с временным взаимодействием (рис. 3, В) капилляр заполняют разделительным электролитом, в него вводят некоторое количество реагента, обладающего меньшей подвижностью (стадия I). Затем вводят второй реагент, обладающий большим значением электрофоретической подвижности (стадия II), который под действием приложенного напряжения пересекается с зоной первого реагента, за счет чего между ними происходит реакция (стадия III). Зона сформированного продукта, а также зоны непрореагировавших реагентов разделяются и мигрируют к детектору под действием приложенного электрического поля (стадия IV). Для ЕММА с временным взаимодействием характерны электрофореграммы, аналогичные получаемым в классическом КЗЭ, без выраженных плато.

Увеличить время контакта, а значит, и выход продукта реакции путем перемешивания зон реагентов при нулевом потенциале в данном режиме сложнее, чем в режиме с постоянным взаимодействием, так как остановить электрофоретическую миграцию необходимо точно в момент перемешивания зон (стадия III).

В отличие от режима с постоянным взаимодействием, в режиме ЕММА с временным взаимодействием формируются более узкие пики, что увеличивает чувствительность регистрации. Также данный режим дает возможность очистить реагенты от нежелательных примесей во время электрофоретической миграции введенных зон перед смешиванием [256]. Количества реагентов, участвующие в ЕММА с временным взаимодействием, значительно меньше, чем в остальных режимах, что является важным преимуществом при исследовании биологических объектов.

В последнее время ЕММА с временным взаимодействием становится все более распространенным [256–273] и достаточно часто используется для дериватизации различных объектов в аналитической химии [274–283].

Для дериватизации компонентов методом ЕММА с временным взаимодействием анализируемых смесей можно выделить два подхода, отличающихся тем, где и каким образом происходит процесс дериватизации. Первый подход (техника *plug-plug*)

заклучаются в последовательном вводе в капилляр зон реагентов или «сэндвича» из зоны одного из реагентов, окруженной с обеих сторон зонами других реагентов. Иногда между зонами реагентов вводятся небольшие зоны разделительного электролита. Под действием напряжения, начинается миграция изначально разделенных реагентов и параллельно протекает реакция, которая длится, пока зоны реагентов пересекаются. Такой подход удобен для исследования систем, в которых один из реагентов недостаточно стабилен в разделительном электролите [284].

Другой вариант, названный в литературе техникой «*zone passing*», основывается на дериватизации в средней части капилляра путем прохождения зоны одного реагента через зону другого под действием электрического поля. Отличие от предыдущего способа заключается в том, что зоны реагентов предварительно продвигают в среднюю часть капилляра путем введения длинной зоны разделительного электролита. Оба способа (*plug-plug EMMA* и *zone-passing EMMA*) хорошо подходят для кинетических исследований быстрых реакций и для систем, в которых продукт может быть неустойчив в избытке одного из реагентов [285].

Однако применение EMMA для изучения неорганических соединений весьма ограничено. В ряде работ для дериватизации того или иного соединения используют модифицирующие добавки в электролит, то есть реализуют режим EMMA с постоянным взаимодействием [125–127]. В других работах дериватизацию ионов металлов проводили при пересечении зоны, содержащей определяемые катионы, с зоной органического модификатора-комплексообразователя, вводимого с другого конца капилляра. [286–289]. Однако исследование более сложных объектов, в которых возможно образование нескольких продуктов не проводилось. В литературе отсутствуют ссылки на работы, связанные с изучением сложных реакций, в которых возможно образование смеси продуктов, путем проведения реакции *in-capillary*.

Возможность проведения реакции непосредственно внутри капилляра и наблюдение образовавшихся продуктов реакции и исходных компонентов является уникальной особенностью метода КЭ. Поэтому исследование возможностей капиллярного электрофореза применительно к изучению растворов ПОМ было бы неполным без рассмотрения режима *in-capillary* применительно к данным комплексам.

Как следует из литературного обзора, особенностью химии полиоксометаллатов является склонность к образованию множества химических форм в растворе, причем для многих полиоксоанионов возможно также существование нескольких изомерных форм и форм с различной степенью протонирования. По этой причине изучение

состава растворов ПОМ является одной из сложнейших задач современной неорганической химии.

Для исследования ПОМ наиболее целесообразным представляется использование сепарационных методов анализа, позволяющих отделять компоненты смесей друг от друга, а также проводить анализ и сбор информации об индивидуальных соединениях, присутствующих в растворе. Как правило, комплексные полиоксометаллаты образуют в растворах заряженные частицы, поэтому для их разделения наиболее пригодны капиллярный электрофорез, принцип разделения которого основан на различиях в скоростях миграции заряженных частиц под действием внешнего электрического поля, и ион-парная обращено-фазовая ВЭЖХ, в основе которой - взаимодействие ионных пар с неподвижной неполярной фазой. В настоящей работе мы изучали возможности обоих методов применительно к системам, содержащим ПОМ. Следует отметить, что практически все опубликованные работы по изучению ПОМ методами КЗЭ и ВЭЖХ были выполнены на модельных объектах известного состава. Существенное отличие данного исследования – изучение реальных смесей, образующихся в ходе синтезов ПОМ заданного состава.

Так как растворы ПОМ представляют собой сложные многокомпонентные системы нередко с ограниченной устойчивостью, то, прежде всего, необходимо было выбрать и оптимизировать условия проведения анализа.

## **ГЛАВА 2. Реактивы, оборудование и методики**

### **2.1. Оборудование**

Для КЗЭ исследований в работе применяли систему капиллярного электрофореза “Agilent G1600” (Agilent Technologies, USA), оснащенную УФ-детектором на основе диодной матрицы с диапазоном длин волн 200–600 нм. Разделения проводили в кварцевом капилляре с внутренним диаметром 75 мкм длиной 68 см и эффективной длиной 60 см. При изучении влияния модификации поверхности на параметры разделения использовали кварцевые капилляры диаметром 100 мкм. Для измерения рН растворов применяли ионометр “Анион 4100” (ИнфраспекАналит, Россия) с комбинированным электродом ESK-10602. Все растворы готовили с использованием деионизованной воды (18 мкСм), очищенной на установке “Ultra-clear” (Germany).

Исследования с применением ВЭЖХ проводили на микроколоночном хроматографе “Миллихром А-02” (Институт хроматографии ЭкоНова, Россия) с двухлучевым УФ-детектором в диапазоне длин волн 190–360 нм на колонке Ø2×75 мм с сорбентом ProntoSIL 120-5-C18AQ (рис. 2.2).

Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker Avance 500 при комнатной температуре с добавлением D<sub>2</sub>O в реакционные смеси. Хим. сдвиги <sup>51</sup>V определяли относительно VOCl<sub>3</sub> (δ=0 м.д.) как внутреннего стандарта в области сканирования (–1000–0) м.д. Модификацию поверхности кварцевого капилляра силанизирующими реагентами проводили в термостате хроматографа Цвет 500М (ОАО “Цвет”, Россия).

В качестве элемент-селективного детектора для ВЭЖХ применяли атомно-эмиссионный спектрометр с индуктивно-связанной плазмой iCap 6500Duo (ThermoScientific, USA).

### **2.2. Реагенты и методики**

Разделительные электролиты для КЗЭ готовили на основе малоновой HOOCCH<sub>2</sub>COOH, монохлоруксусной C<sub>2</sub>O<sub>2</sub>H<sub>3</sub>Cl, уксусной CH<sub>3</sub>COOH, винной C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub> и щавелевой HOOC-COOH кислот, имеющих квалификацию ОСЧ (Реахим, Москва, Россия). Элюенты для ВЭЖХ готовили на основе уксусной кислоты (1% об.). В работе также применяли гидроксид натрия NaOH (Chemapol, CzechRepublic); ацетонитрил ACN (Криохром, Ст. Петербург, Россия), тетрабутиламмония гидроксид (ТБАГ) (C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>)<sub>4</sub>NOH (Chemapol, CzechRepublic), цетилтриметиламмония бромид (ЦТАБ) C<sub>16</sub>H<sub>35</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>NBr (Chemapol, CzechRepublic). Для модификации стенок

кварцевого капилляра силанольными группами в качестве силанизирующих агентов использовали гексаметилдисилазан  $((\text{CH}_3)_3\text{Si})_2\text{NH}$  и диоктилтетраметилдисилазан  $((\text{CH}_3)_2\text{C}_8\text{H}_{17}\text{Si})_2\text{NH}$ . Для приготовления смеси гетерополивольфраматов использовали  $\text{H}_3[\text{PW}_{12}\text{O}_{40}]$ ,  $\text{H}_4[\text{SiW}_{12}\text{O}_{40}]$ ,  $\text{Na}_5[\text{BW}_{12}\text{O}_{40}]$  и  $\text{Na}_2\text{WO}_4$  (reagent grade, Sigma Aldrich). Для проведения реакций *in-capillary* использовали молибдат натрия  $\text{Na}_2\text{MoO}_4$ , метаванадат аммония  $\text{NH}_4\text{VO}_3$  и дигидрофосфат натрия  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (reagent grade, Sigma Aldrich).

Модификацию кварцевых капилляров проводили посредством реакции с силанизирующими реагентами (гексаметилдисилазан и диоктилтетраметилдисилазан). Перед процедурой модификации капилляр промывали водой, проводили гидролиз поверхности 0,5М раствором NaOH в течение нескольких часов, затем капилляр вновь промывали водой и ацетонитрилом и сушили в токе азота. Для модификации поверхности капилляры заполняли силанизирующим реагентом и выдерживались несколько часов при повышенной температуре (200–350°C). Затем капилляры промывали гексаном, ацетонитрилом и вновь высушивали в токе инертного газа.

### **ГЛАВА 3. Применение сепарационных методов в исследовании полиоксометаллатов**

Высокая эффективность, характерная для КЗЭ, может стать значительным преимуществом при изучении сложных многокомпонентных растворов ПОМ. С другой стороны, альтернативным методом, пригодным для изучения этих растворов, является ВЭЖх в ион-парном обращено-фазовом режиме. Известно, что растворы полиоксометаллатов представляют собой сложные многокомпонентные системы нередко с ограниченной устойчивостью, поэтому, прежде всего, необходимо было выбрать и оптимизировать условия проведения анализа.

#### **3.1. ГПС на основе вольфрама $[XW_{12}O_{40}]^{m-}$**

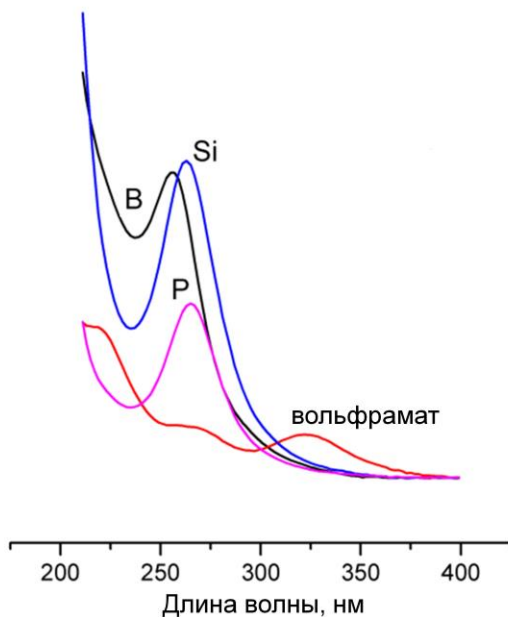
Для этой цели в качестве исходной модельной системы были приготовлены смеси ГПС, содержащие  $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$ ,  $[SiW_{12}O_{40}]^{4-}$ ,  $[BW_{12}O_{40}]^{5-}$  и  $WO_4^{2-}$ . В соответствии с литературными данными [125–127], наиболее подходящими электролитами для разделения ПОМ являются буферные растворы на основе органических карбоновых кислот, т.к. полиоксометаллаты стабильны только в кислой среде. Так как большинство исследуемых комплексов устойчивы в кислых средах, то и выбор электролитов ограничивался буферными растворами со значениями pH от 1,3 до 3,5 на основе кислот, в качестве которых применяли растворы соляной кислоты (0,01–0,05М) и буферные смеси на основе винной (0,1М, pH=3,5), тетраоксалатной (0,1М, pH=1,7), малоновой (0,1М, pH=2,8), уксусной (0,1М, pH=2,5) и монохлоруксусной (0,1М, pH=2,8) кислот. При  $pH \leq 3$  скорость ЭОП была достаточно мала и не оказывала существенного влияния на скорости миграции разделяемых компонентов, поэтому разделение анионных комплексов ПОМ проводили при отрицательной полярности без обращения электроосмотического потока.

Так как ПОМ образуют в растворах анионы, а скорость ЭОП в кислых средах мала, разделение проводили при отрицательной полярности, при этом применяли пневматический ввод пробы. При небольших временах ввода пробы (около 5 с) наблюдалась плохая воспроизводимость вводимого в капилляр количества вещества, поэтому стандартное время ввода составило 10 секунд или более. При проведении разделения было установлено, что пики правильной формы формируются, если ввод пробы производится из десятикратно разбавленного раствора электролита. При использовании водного раствора образца в качестве вводимой в капилляр пробы зачастую наблюдалось искажение пиков.



Одной из проблем, связанных с исследованием смесей ПОМ, является то, что многие близкие по составу и структуре комплексы обладают практически идентичными спектрами поглощения в видимой и УФ-области. По этой причине классический спектрофотометрический детектор не позволяет осуществить корректную идентификацию компонентов смеси. С другой стороны, большинство ПОМ характеризуются высокими значениями коэффициентов молярного поглощения на уровне  $\geq 2,5 \cdot 10^3$  в видимой и УФ-областях, что обеспечивает достаточно высокую чувствительность их детектирования, т.е. делает возможным регистрацию пиков комплексов даже при малой длине оптического пути (50–100 мкм), который соответствует величине внутреннего диаметра капилляра в КЗЭ.

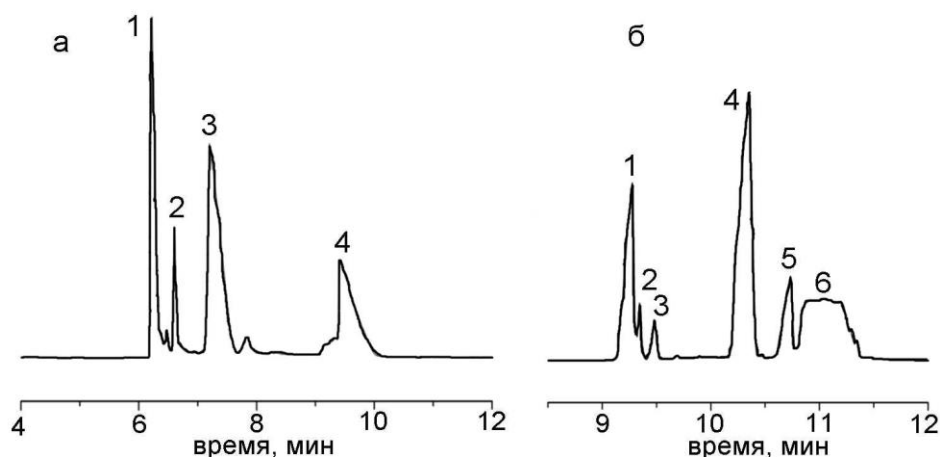
Для рассматриваемой модельной смеси гетерополивольфрамов идентификацию пиков проводили по временам миграции путем сопоставления с таковыми для индивидуальных компонентов. Однако чаще всего для большого числа исследуемых систем, например, реакционных смесей, компоненты смеси в индивидуальной форме отсутствуют. В таких случаях можно применять идентификацию по спектрам поглощения. Большинство современных систем капиллярного электрофореза укомплектованы УФ-детекторами на основе фотодиодной матрицы, которые позволяют регистрировать спектры поглощения непосредственно в процессе разделения аналитов. Так, на рис. 4 представлены электронные спектры поглощения модельной смеси гетерополивольфрамов в УФ-диапазоне, записанные непосредственно во время электрофоретического разделения (в *on-line* режиме). Видно, что значения максимумов поглощения в спектрах соединений на основе кремния, бора и фосфора близки, что существенно осложняет их идентификацию, особенно при изучении реальных реакционных смесей, образующихся в ходе синтеза того или иного комплекса, содержащих как исходные соединения, так и продукты реакции. Кроме того, для многих ПОМ получение и выделение индивидуальных соединений весьма проблематично, поэтому и идентификация по временам миграции компонентов затруднена. По этой причине оптимальным вариантом для изучения вещественного состава подобных смесей представляется сочетание различных физико-химических методов.



**Рис. 4.** УФ-спектры соединений модельной смеси (0,1М электролит на основе малоновой кислоты, рН=3,5)

Наилучшие с точки зрения эффективности разделения и формы пиков результаты были получены для 0,05М раствора HCl и 0,1М раствора малонового буфера в качестве разделительного электролита. При необходимости уровень рН корректировался добавкой небольших количеств гидроксида натрия. На рис. 5 представлены электрофореграммы, характеризующие разделение модельной смеси в растворе соляной кислоты (рис. 5, а) и в 0,1М электролите на основе малоновой кислоты (рис. 5, б). Детектирование проводили на длинах волн 250 и 270 нм, при которых исследуемые комплексы обладают достаточно большими коэффициентами молярного поглощения.

Различие в селективности (отношения времен удерживания компонентов:  $\alpha_{1,2} = \frac{t_{R1}}{t_{R2}}$ , где  $t_{Ri}$  – времена удерживания компонентов) для ГПС на основе вольфрама, вероятно, объясняется тем, что в разных буферных системах одни и те же комплексы различаются по электрофоретическим подвижностям, что обусловлено образованием отличающихся друг от друга параметрами сольватной оболочки и эффективными зарядами форм. В электролите на основе малоновой кислоты помимо основных компонентов смеси зарегистрировано еще два пика. Предположительно, пики 2 и 6 на рис. 5, б могут относиться к продуктам превращения или распада изучаемых ПОМ или соответствовать различным формам вольфрамат-аниона.



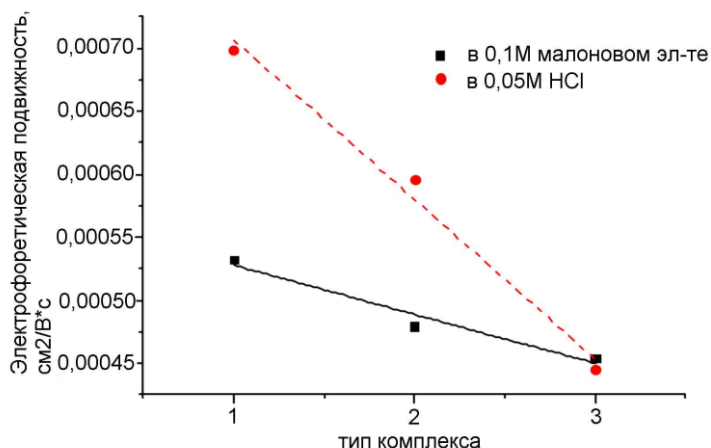
**Рис. 5.** Разделение смеси ГПС на основе вольфрама в разделительном электролите на основе 0,05M HCl (а). (–12 кВ, 250 нм, пневматический ввод пробы 300 мбар·с. 1 –  $[BW_{12}O_{40}]^{5-}$ , 2 – вольфрамат-анион, 3 –  $[SiW_{12}O_{40}]^{4-}$ , 4 –  $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$ ) и на основе 0,1M малоновой кислоты (рН=3,50, –17 кВ, 250 нм, пневматический ввод пробы 300мбар·с, 1 –  $[BW_{12}O_{40}]^{5-}$ , 2 – неидентифицированный компонент, 3 – вольфрамат-анион, 4 –  $[SiW_{12}O_{40}]^{4-}$ , 5 –  $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$ , 6 – неидентифицированный компонент)

Из приведенных результатов видно, что для получения качественного электрофоретического разделения рассмотренных гетерополивольфраматов предпочтительным является использование разделительного электролита на основе соляной кислоты при условии, что его рН удовлетворяет требованиям по устойчивости исследуемых комплексов. Количество пиков на электрофореграмме соответствует составу изучаемой модельной смеси при разделении компонентов смеси до базовой линии. С другой стороны, для электролита на основе малоновой кислоты, наблюдается формирование большего количества сигналов, что говорит об образовании новых комплексов, возможно, благодаря агрегации, протонированию и (или) деструкции компонентов системы. Разрешение ( $R_s = 2 \frac{(t_{R2}-t_{R1})}{(W_1+W_2)}$ , где  $t_{Ri}$  – время выхода (миграции) пиков,  $W_i$  – ширина пиков) для пар пиков основных компонентов составило:  $R_{1,2}=0,6$ ,  $R_{2,3}=1,4$ .

Следует отметить, что порядок миграции анионов рассматриваемых гетерополивольфраматов совпадает с ожидаемым, исходя из значений номинальных зарядов: первым мигрирует анион  $[BW_{12}O_{40}]^{5-}$ , за ним  $[SiW_{12}O_{40}]^{4-}$ , последним анион  $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$ .

Известно, что в водных растворах анионы с высокими зарядами практически не существуют, т.к. в кислой среде подвергаются различной степени протонирования, поэтому их эффективный заряд всегда будет ниже, чем номинальный.

Если принять, что эффективный размер всех гидратированных анионных комплексов в исследуемой смеси примерно одинаков, то зависимость их электрофоретических подвижностей от заряда должна быть линейной в соответствии с формулой  $\mu = \frac{zF}{6\pi\eta r}$ , где  $z$  - заряд частицы,  $F$  – постоянная Фарадея,  $r$  - радиус частицы с учетом сольватной оболочки,  $\eta$  – вязкость среды.



**Рис. 6.** Зависимость экспериментально установленных значений подвижности от заряда комплекса. 1 –  $[\text{BW}_{12}\text{O}_{40}]^{5-}$ , 2 –  $[\text{SiW}_{12}\text{O}_{40}]^{4-}$ , 3 –  $[\text{PW}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$

Для гетерополивольфрамов, содержащих различные гетероатомы ( $X=\text{B}, \text{Si}, \text{P}$ ), зависимость подвижностей от номинального заряда комплекса (т.е. по сути, от природы гетероатома) приведена на рис. 6. Видно, что с уменьшением заряда комплексного аниона электрофоретическая подвижность снижается, а значит, в принципе, полученные экспериментально значения подвижностей можно использовать для оценки отношений эффективных зарядов комплексов, исходя из предположения о том, что их радиусы примерно одинаковы, а ЭОП практически отсутствует. Если скоростью ЭОП нельзя пренебречь, то при расчете электрофоретических подвижностей следует учитывать его вклад в общую скорость миграции компонентов. Следует отметить, что для электролитов на основе соляной и малоновой кислот подвижность иона  $[\text{PW}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$  одинакова, что можно рассматривать, как аргумент, указывающий на его присутствие в обеих системах в одинаковой форме. Если же принять, что скорость ЭОП, направленного против движения анионов, пренебрежимо мала, то в малоновом электролите эффективные подвижности компонентов модельной смеси соотносятся как 1:1,07:1,16 для  $[\text{PW}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$ ,  $[\text{SiW}_{12}\text{O}_{40}]^{4-}$  и  $[\text{BW}_{12}\text{O}_{40}]^{5-}$  соответственно, а значит, их эффективные заряды близки. Для солянокислого электролита аналогичное соотношение в том же приближении выглядит как 1:1,24:1,56 (табл. 3). Тогда можно предположить, что соотношение коэффициентов  $\alpha$ , то есть долей формы с номинальным зарядом,

рассчитанное для разных пар электролитов, позволяет судить о степени протонирования, т.е. о преобладании той или иной формы в растворе.

Т а б л и ц а 3

**Значения эффективных электрофоретических подвижностей ГПС на основе W в различных электролитах**

	$\mu_{эфф}$ (0,1М малон. эл-т) см <sup>2</sup> /кВ·с	$\mu_{эфф}$ (0,05М HCl) см <sup>2</sup> /кВ·с	$\frac{\mu_{эфф(HCl)}}{\mu_{эфф(мал.)}} = \frac{\mu\alpha_{HCl}}{\mu\alpha_{мал.}} = \frac{\alpha_{HCl}}{\alpha_{мал.}}$
$[PW_{12}O_{40}]^{3-}$	0,45±0,04	0,45±0,04	1
$[SiW_{12}O_{40}]^{4-}$	0,48±0,04	0,59±0,04	1,23
$[BW_{12}O_{40}]^{5-}$	0,52±0,06	0,70±0,07	1,35

Можно полагать, что различие в наклонах прямых может быть обусловлено различиями в величинах эффективных зарядов комплексов для данных электролитов. Однако не следует забывать о том, что подобный подход применен в приближении, что все частицы обладают одинаковыми размерами, а скорость ЭОП пренебрежимо мала и не вносит своего вклада в результирующую скорость миграции частиц. Последнее подтверждается данными экспериментальной оценки величины ЭОП, которую проводили с применением в качестве маркера ацетона и бензола. Оказалось, что электрофоретическая подвижность, соответствующая ЭОП, составила около 0,02 см<sup>2</sup>/кВ·с

**3.2. ГПС состава  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$**

Однако чаще всего наибольший интерес для исследователей представляют не модельные системы, а смеси, состав которых неизвестен или известен лишь предположительно. К таким объектам можно отнести реальные реакционные смеси, смеси продуктов синтеза новых комплексных соединений, в том числе и полиоксометаллатов.

Сложность изучения таких объектов, как уже отмечалось, связана, прежде всего, с близкими свойствами разделяемых комплексов, в частности, УФ-спектров. Кроме того, растворы подобных соединений по своему составу могут в значительной степени отличаться от твердой фазы, т.е. в твердом состоянии и в растворе могут присутствовать различные формы.

Как уже отмечалась в литературном обзоре, исследование состава и свойств полиоксометаллатов – актуальная задача современной химии, причем наиболее важной ее частью является изучение смесей продуктов синтеза фосфованадомолибдатов состава  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$ . Комплексы данного типа

интересны, прежде всего, как катализаторы гомогенного окисления алкенов, окисления бромидов и йодидов, совмещенного с электрофильным замещением в ароматическом кольце, окисления органических и неорганических серосодержащих соединений, окислительного дегидрирования циклических диенов, спиртов, аминов и фенолов. Важным свойством фосфованадомолибдатов, в частности, комплекса  $[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$ , является окисление метана и бензола в присутствии кислорода и окиси углерода благодаря образованию гидроксил-радикалов [290]. В процессе синтеза данных соединений, как правило, образуется смесь веществ, состав которой зависит от исходного соотношения фосфата, молибдата и метаванадата в реакционной смеси. При изучении продуктов синтеза этих комплексов часто требуется выделение их в виде твердой фазы, например, для проведения рентгеноструктурного анализа. Так как нередко состав твердой фракции и раствора могут существенно различаться, то изучение активности комплексов при гомогенном катализе перерастает в серьезную проблему. Поэтому определение качественного количественного состава растворов ПОМ представляет собой важную задачу.

В рамках настоящей работы изучение возможностей сепарационных методов применительно к исследованию ПОМ проводили на примере реакции синтеза комплексов состава  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$  по методике [104]. В отличие от рассмотренной ранее модельной системы гетерополивольфраматов, смесь фосфованадомолибдатов представляла собой реальный объект, состав которого неизвестен. Исследование подобных систем сопряжено с рядом сложностей:

- 1) отсутствие достоверной информации о количестве компонентов смеси и их природе
- 2) необходимость подбора условий разделения лишь на основании некоторых предположений или даже методом перебора
- 3) отсутствие индивидуальных компонентов смесей, что затрудняет идентификацию соединений
- 4) практически идентичные спектры поглощения в видимой и УФ-областях для соединений, входящих в состав исследуемых смесей
- 5) ограниченная стабильность комплексов ПОМ, что накладывает ограничения на выбор условий разделения

Возможности и ограничения сепарационных методов, рассматриваемых в качестве наиболее подходящих для решения поставленной задачи, которые в наибольшей степени, проявляются при исследовании реальных объектов, сопоставлены в гл. 1 (литературный обзор). На данный момент в литературе

отсутствуют какие-либо данные об изучении комплексов фосфованадомолибдатов методами КЗЭ и ВЭЖХ. В настоящей работе исследованию подвергались смеси, содержащие комплексные анионы со значением  $x=0-3$ , которые устойчивы только в кислых средах ( $pH \leq 3$ ), что и определило выбор в качестве жидких сред для их разделения буферных растворов на основе кислот

### ***3.2.1. Изучение комплексных фосфованадомолибдатов с применением ВЭЖХ и КЗЭ***

Ввиду отсутствия индивидуальных соединений для идентификации компонентов смеси ПОМ, нами был применен подход, основанный на использовании так называемых псевдо-стехиометричных смесей, синтезированных при определенных стехиометрических соотношениях фосфора, молибдена и ванадия, для которых известны [291] величины химических сдвигов ( $\delta$ ) в ЯМР на ядрах  $^{51}\text{V}$ .

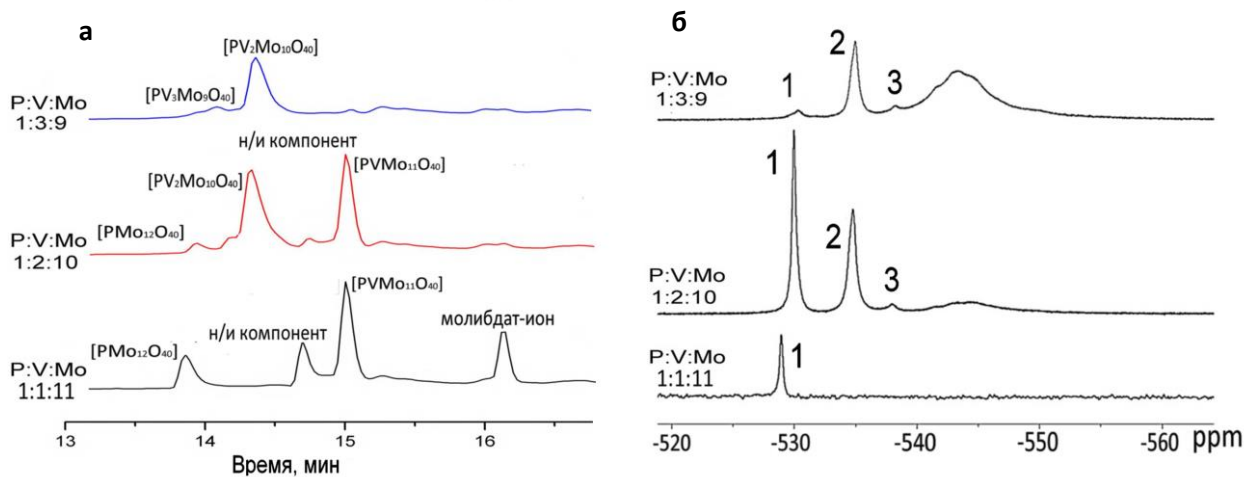
*ВЭЖХ.* Условия для ВЭЖХ-разделения комплексов подбирали на основании данных об устойчивости комплексов (кислая среда,  $pH < 4.0$ ) и их взаимодействии с ион-парными реагентами. Экспериментально установлено, что при незначительных добавках таких ПАВ, как ЦТАБ и ТБАГ, при наличии в растворе ацетонитрила визуально не наблюдалось заметного формирования осадка. Сигнал фиксировали на тех длинах волн, на которых комплексы обладают значительным поглощением. Профиль градиента элюирования подбирали экспериментально так, чтобы обеспечить максимально быстрое и эффективное разделение при высоких коэффициентах разделения.

Хроматограммы комплексов, полученных при различных соотношениях молибдена и ванадия, и их ЯМР спектры представлены на рис.7.

Отнесение сигналов на приведенных выше хроматограммах проводили с применением ЯМР-спектроскопии. Известно, что спектры  $^{51}\text{V}$ -ЯМР представляются наиболее полезными в качестве источника информации о количестве соединений фосфованадомолибдатов с различным числом атомов ванадия в структуре, присутствующих в растворе.

На основании данных ЯМР можно судить о составе исследуемых растворов фосфованадомолибдатов: так как положение сигнала в  $^{51}\text{V}$ -ЯМР-спектре (значение хим. сдвига) зависит от числа атомов ванадия в структуре комплекса, а интенсивность сигнала пропорциональна количеству соответствующего комплекса, то представляется возможным проводить идентификацию пиков путем сопоставления интенсивностей сигналов в ЯМР-спектрах и площадей пиков на хроматограммах и

электрофореграммах. Таким образом, исходя из соотношений интенсивностей сигналов в ЯМР-спектрах и площадей пиков на хроматограммах, можно заключить, что исследуемые растворы отличаются по составу и содержат комплексы  $[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$ ,  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$  и  $[PV_3Mo_9O_{40}]^{6-}$ .



**Рис. 7.** Хроматограммы растворов, полученных в ходе синтеза комплексов  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{3-x-}$  заданного состава (а). Градиентное элюирование: элюент А – 0,04% ТБАГ в 1% АсН (рН 2,7); Элюент Б – АСН. Условия разделения: 9,375 мин градиент Б 20 – 80%.  $^{51}V$ -ЯМР-спектры растворов, содержащих продукты синтеза ПОМ при различных соотношениях V/Mo (б): 1 –  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ , 2 –  $[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$ , 3 –  $[PV_3Mo_9O_{40}]^{6-}$

*Капиллярный зонный электрофорез.* Растворы фосфованадомолибдатов, образующиеся в ходе синтеза комплексов заданной стехиометрии, также были изучены методом КЗЭ. Выбор разделительных электролитов осуществляли на основании опубликованных данных по определению микроэлементов в объектах различной природы с применением дериватизации с образованием гетерополимолибдатов [125–127]. Наилучшие результаты с точки зрения эффективности разделения были получены для электролитов на основе малоновой и монохлоруксусной кислот. При использовании электролита на основе соляной кислоты вопреки ожиданиям, основанным на результатах, полученных для модельной смеси гетерополивольфраматов, разрешение для пар пиков было ниже, чем в случае электролитов на основе органических кислот. В таблице 4 приведены характеристики электролитов, апробированных в качестве разделительных при анализе смеси указанных фосфованадомолибдатов. Как и в случае гетерополивольфраматов (п. 3.1.1), фосфованадомолибдаты образуют в растворе анионы, поэтому их разделение проводили при отрицательной полярности (скорость ЭОП также мала и не оказывает



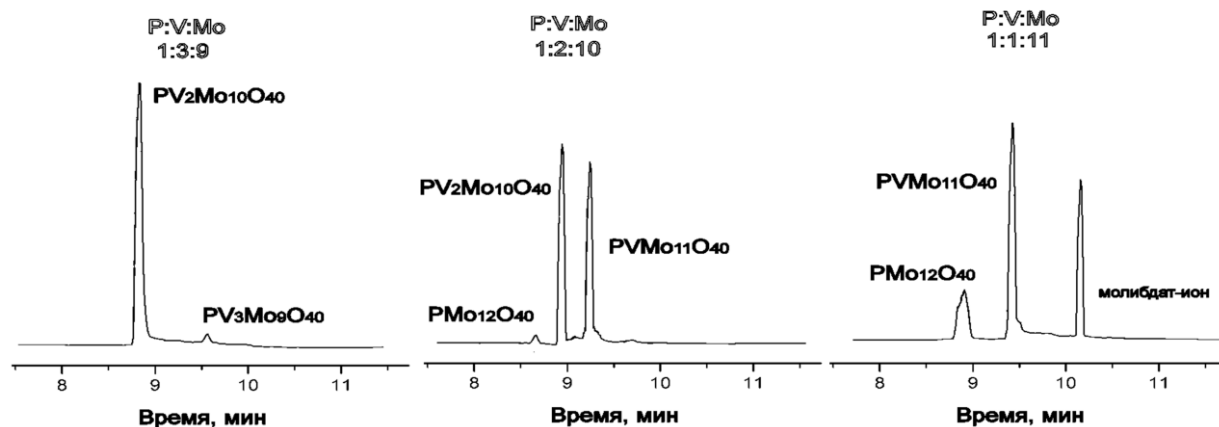
значительного влияния на миграцию частиц). Ввод пробы осуществлялся из разбавленного в 10 раз разделительно электролита, так как при этом наблюдалась наиболее корректная (симметричная) форма пиков без значительных искажений. Аналитические сигналы регистрировали при длинах волн 230– 300 нм, так как исследуемые комплексы поглощают в указанном диапазоне.

Т а б л и ц а 4

**Состав разделительных электролитов при изучении ПОМ на основе фосфора, молибдена и ванадия**

Электролит	Концентрация, мМ	рН	Буфер для ввода пробы
НСI	50	1,30	вода
			5мМ НСI
	10	2,00	вода
			5мМ НСI
Тартратный (винная кислота – NaOH)	50	3,56	5мМ тартр.
Оксалатный (тетраоксалат натрия – щавелевая кислота)	50	1,68	5мМ тетраокс.
Цитратный (Лимонная кислота – цитрат натрия)	100	2,03	10мМ цитрат.
		2,47	
Ацетатный (уксусная кислота – ацетат натрия)	100	3,68	10мМ ацет.
Монохлорацетатный (монохлоруксусная кислота – NaOH)	100	2,00	10мМ монохлоацетатн.
		2,78	
		3,00	
	50	2,50	5мМ монохлоацетатн.
	10	2,50	1мМ монохлоацетатн.
Малонатный (малоновая кислота – NaOH)	50	2,00	5мМ мал.
		3,00	
		4,00	
	100	2,00	10мМ мал.
		3,00	
		4,00	

На рис. 8 представлены электрофореграммы стехиометричных комплексов на основе фосфора, ванадия и молибдена.



**Рис. 8.** Электрофореграммы растворов, полученных в ходе синтеза комплексов  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$  заданного состава. Разделительный электролит: электролит на основе монохлоруксусной кислоты (0,1M, pH=2,7), -17 кВ, 250 нм, пневматический ввод пробы (300 мбар·с)

Сигналы на электрофореграммах идентифицировали путем сопоставления с  $^{51}V$ -ЯМР-спектрами и пиками на хроматограмме (рис.7).

Для оценки и сопоставления возможностей методов КЗЭ и ВЭЖХ применительно к изучению состава растворов ПОМ применяли условно-модельную смесь фосфованадомолибдатов, составленную из трех стехиометричных растворов, в состав которой входили все три комплекса, а именно:  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ ,  $[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$  и  $[PV_3Mo_9O_{40}]^{6-}$ . Подобная смесь удобна тем, что в ней содержатся все три исследуемых комплекса в достаточно больших для обнаружения количествах.

### 3.2.2. Сравнение возможностей ВЭЖХ и КЗЭ при исследовании смеси фосфованадомолибдатов

Как уже отмечалось ранее, для изучения смеси заряженных частиц вполне обоснованным представляется применение метода ИП-ОФ-ВЭЖХ, так как принцип разделения в нем основан на взаимодействии разделяемых заряженных частиц с НФ, модифицированной ион-парным реагентом, и на взаимодействии образующихся с ион-парным реагентом ассоциатов комплексов ПОМ с неполярной НФ. Условия для разделения фосфомолибдованадатом были выбраны на основе данных, приведенных в литературе [95, 128], в которых, однако, изучали модельные смеси гетерополивольфратом и других комплексов.

Разделение ПОМ состава  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3-x)}$  с применением ВЭЖХ проводили как в изократическом, так и в градиентном режимах, однако предпочтение было отдано градиентному режиму элюирования. pH подвижной фазы выбирали так, чтобы

обеспечить устойчивость комплексов и гарантировать их присутствие в растворе в ионной форме. В качестве элюента А использовали раствор уксусной кислоты с pH 2,5 с добавкой ион-парного реагента – тетрабутиламмоний гидроксида. В качестве элюента Б – ацетонитрил, обладающей достаточно высокой элюирующей силой. Наилучшие результаты с точки зрения параметров разделения были получены при pH 2,5–3,0. При выборе ион-парного реагента были испытаны тетрабутиламмоний гидроксид и цетилтриметиламмоний бромид. Оказалось, что в диапазоне концентраций ЦТАБ 0,1–2,5 мМ удерживание и разделение отсутствовало, а при концентрации ЦТАБ ~ 2,5 мМ пики не были зарегистрированы вообще. Это, скорее всего, может быть связано с образованием малорастворимых ионных ассоциатов анионов ПОМ с цетилтриметиламмонием даже в водно-органической смеси с содержанием ацетонитрила до 80%. При использовании ТБАГ, в составе аммонийной группы которого входят более короткие углеводородные цепи, по мере снижения его концентрации в элюенте наблюдалось уменьшение коэффициентов емкости компонентов смеси вплоть до полного отсутствия удерживания. При этом симбатно снижалось и разрешение пиков вплоть до полного отсутствия разделения (табл. 5). Увеличение содержания ион-парного реагента в подвижной фазе, напротив, приводило к сильному удерживанию: так, при концентрации ТБАГ > 3,85 мМ (0,1% масс.) аналиты не удавалось элюировать даже в градиентном режиме при достижении 100% содержания АСН.

Результаты, характеризующие качество разделения компонентов смеси в зависимости от концентрации ТБАГ в подвижной фазе представлены в табл. 5. Видно, что удовлетворительное разделение ( $R_s \sim 1,5$  и выше) было достигнуто при концентрации ТБАГ в диапазоне 1,5–2,0 мМ. По-видимому, при концентрации ТБАГ ниже 1,5 мМ НФ не модифицируется в достаточной степени для того, чтобы на ней происходило хоть сколько-нибудь значимое удерживание аналитов (или не происходит образования ассоциатов с ионами ПОМ в достаточном количестве). С другой стороны, при увеличении концентрации ТБАГ времена удерживания аналитов на НФ значительно возрастают, хотя разрешение  $R_s$  меняется незначительно.

Разделение исследуемой условно-модельной смеси полиоксометаллатов до базовой линии было достигнуто при градиентном режиме элюирования с ТБАГ в качестве ион-парного реагента.

**Зависимость разрешения пар пиков от концентрации ион-парного реагента в подвижной фазе**

Концентрация ТБАГ*, мМ	$R_{s1,3}$	$R_{s1,2}$	N, теор.тар.	Время выхода последнего пика, мин
0,5	~0	0	-	~2**
0,75	~0	0	-	~2**
1,00	~0,5	0	-	~15,0
1,25	~0,7	1,8	2800	~15,5
1,50***	~1,8	2,7	3800	~17,2
1,75***	~1,8	2,7	3800	~17,5
2,00***	~1,9	2,7	3800	~17,8
2,25	~2,0	>3	3600	~24,5
2,50	~2,0	>3	3700	~26,3
2,75	~2,2	>3	3600	~28,7
3,00	~2,4	>3	3700	~29,0
3,25	~2,5	>3	3800	>30,0
3,50	~2,5	>3	3600	>30,0
3,75	~2,5	>3	3700	>30,0
2,25	~2,0	>3	3800	~24,5

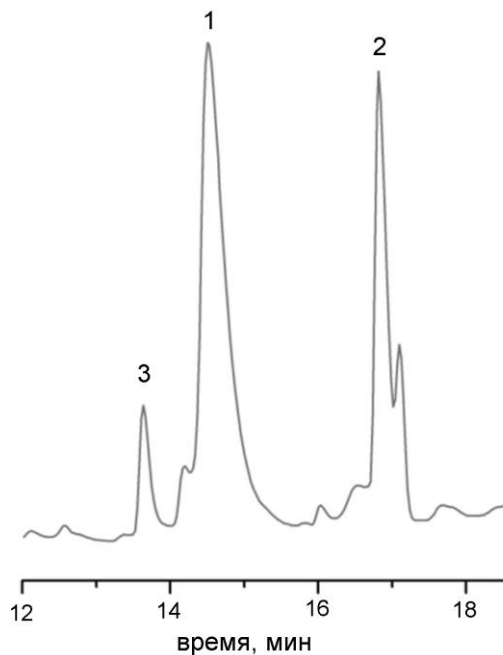
*Примечание:*

\* – в качестве ион-парного реагента использовался тетрабутиламмоний гидроксид (ТБАГ)

\*\* – время совпадает с мертвым временем колонки

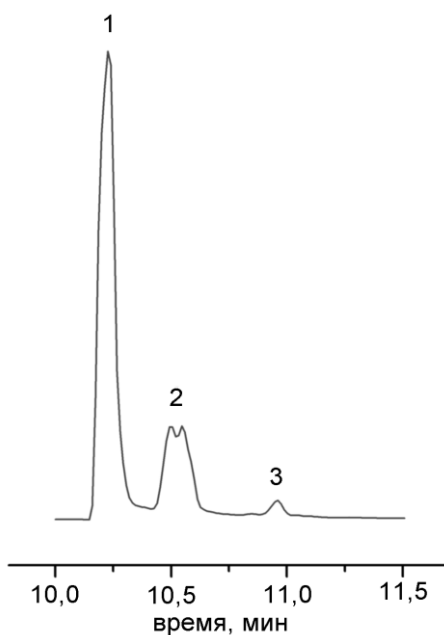
\*\*\* – оптимальные концентрации, позволяющие получить хорошее разрешение при удовлетворительном времени анализа

Видно, что на хроматограмме (рис. 9) регистрируются три пика, причем один из них представляет собой смесь двух неразделенных компонентов. Идентификацию комплексов ПОМ проводили на основании данных ЯМР-спектроскопии на ядрах  $^{51}\text{V}$  в соответствии со значениями хим. сдвигов и интенсивностей сигналов для анионов с разным количеством атомов ванадия в структуре (см. раздел 3.2). При этом в исследуемой смеси обнаружены комплексы  $[\text{PV}_2\text{Mo}_{10}\text{O}_{40}]^{5-}$  (пик 1),  $[\text{PVMo}_{11}\text{O}_{40}]^{4-}$  (пик 2),  $[\text{PV}_3\text{Mo}_9\text{O}_{40}]^{6-}$  (пик 3).



**Рис. 9.** Хроматограмма смеси ионов фосфованадомолибдатов. Градиентное элюирование: элюент А – 0,04% ТБАГ в 1% АсН (рН 2,7); элюент Б – АСН. Условия разделения: 9,375 мин градиент Б 20 - 80%. 1 –  $[\text{PV}_2\text{Mo}_{10}\text{O}_{40}]^{6-}$ , 2 –  $[\text{PVMo}_{11}\text{O}_{40}]^{5-}$ , 3 –  $[\text{PV}_3\text{Mo}_9\text{O}_{40}]^{4-}$

В выбранных условиях было достигнуто удовлетворительное разделение компонентов смесей, образующихся в ходе синтеза ПОМ. Однако проблема, связанная с идентификацией компонентов, осталась нерешенной. Стандартный способ идентификации по временам удерживания не мог быть применен из-за отсутствия индивидуальных соединений. Кроме того, многие из компонентов разделяемых смесей характеризуются идентичными спектрами поглощения в видимой и УФ-областях, что усложняет их идентификацию с использованием УФ-детектора, которым оснащено большинство систем ВЭЖХ и КЗЭ.

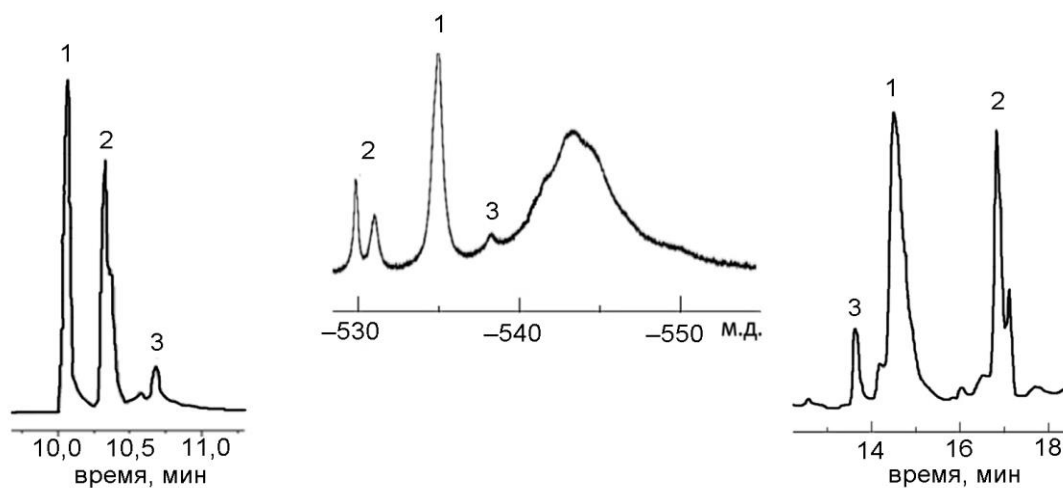


**Рис. 10.** Электрофореграмма смеси продуктов синтеза ПОМ на основе фосфора, ванадия и молибдена. Условия: электролит на основе монохлоруксусной кислоты (0,1М, рН=2,5), -17 кВ, 250 нм, пневматический ввод пробы (300 мбар·с)

Для повышения степени информативности исследования ПОМ и сравнения методов ВЭЖХ и КЭ рассмотренная выше условно-модельная смесь фосфованадомолибдатов состава  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$  была также изучена с применением метода капиллярного электрофореза (рис. 10). На электрофореграмме можно различить сигналы, соответствующие трем основным продуктам, представляющим собой комплексы фосфованадомолибдатов различного состава.

Следует подчеркнуть, что в отличие от ГПС на основе вольфрама, порядок миграции фосфованадомолибдатов не совпадает с ожидаемым, если исходить из номинальных зарядов комплексов. Основываясь на предположении, что размеры гидратированных анионов для всех комплексов примерно одинаковы, можно ожидать, что их подвижность будет уменьшаться в ряду:  $[PV_3Mo_9O_{40}]^{6-} > [PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-} > [PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ . Однако, как видно из рис. 10, комплекс  $[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$  мигрирует с наибольшей скоростью, за ним следует  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ , а анион  $[PV_3Mo_9O_{40}]^{6-}$  выходит последним.

На рис. 11 приведены результаты разделения компонентов данной смеси, содержащей различные ПОМ, методами КЭ и ВЭЖХ, а также ЯМР-спектр условно-модельной смеси. Сопоставление всей совокупности данных позволило идентифицировать аналитические сигналы реакционной смеси.



**Рис. 11.** Сопоставление результатов ЯМР, ВЭЖХ и КЭ исследований смеси фосфованадомолибдатов  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$ . 1 –  $[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$ , 2 –  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ , 3 –  $[PV_3Mo_9O_{40}]^{6-}$

Видно, что пик 3 представлен двумя неразрешенными сигналами, что говорит о наличии двух не разделяющихся в данных условиях компонентов. Можно предположить, что один из неразделенных пиков относится к одной из форм комплекса  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$  с другой степенью протонирования или, вероятно, к трудно отделяемой примеси.

Данные, полученные с применением методов ВЭЖХ и КЗЭ, хорошо согласуются между собой и с данными ЯМР-спектроскопии. Приведенные результаты исследований показывают, что в ходе синтеза во всех случаях образуется смесь комплексов различного состава.

В процессе хроматографирования и электрофоретического разделения смеси комплексов  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$  ( $x=1-3$ ) регистрируются три пика, причем последний пик 3 (рис. 11) представляет собой смесь двух неразделенных компонентов. Важно, что как на электрофореграмме, так и на хроматограмме пик, отнесенный к комплексу  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$  имеет 2 вершины, что является косвенным подтверждением правильности идентификации. Более того, в  $^{51}V$ -ЯМР-спектре исследуемой смеси на частоте, соответствующей данному комплексу также наблюдается два разделенных сигнала. Расчет электрофоретической подвижности комплекса  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$  проводили, принимая во внимание время, соответствующее первой вершине двойного пика, однако различие в значениях подвижностей для двух компонентов двойного пика составило всего 0,5%. Скорее всего, оба неразделенных сигнала относятся к комплексу  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$  с различной степенью протонирования.

Порядок выхода компонентов смеси на хроматограмме отличается от такового для КЗЭ: сначала комплекс  $[PV_3Mo_9O_{40}]^{6-}$ , затем  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ , и последним  $[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$ . Такой порядок элюирования анионов можно связать со смешанным механизмом взаимодействия этих комплексных форм с неподвижной фазой, а именно: ион-парным и неспецифическим (гидрофобным). В случае ион-парной хроматографии происходит удерживание частицы на модифицированной поверхности НФ. Кроме того, возможна модификация самой частицы ион-парным реагентом с формированием неионогенного соединения - ассоциата, способного разделяться на обращенной фазе. Исходя из того, что с уменьшением абсолютного значения номинального заряда комплексного аниона  $z = -(3+n)$ , где  $z$  – заряд иона,  $n$  – число атомов ванадия в структуре, увеличивается время удерживания, можно предположить, что чем меньше величина  $z$ , тем в меньшей степени комплекс подвержен модификации молекулами катионными ПАВ. Отметим, что в водном растворе анионные формы комплексов существуют в одной или нескольких протонированных формах, и потому их фактический заряд меньше, чем номинальный.

Поскольку оценка вклада неспецифических взаимодействий в удерживание исследуемых комплексов весьма приближительна, корректный прогноз порядка выхода комплексов в ВЭЖХ невозможен. Однако можно предположить, что с

уменьшением поверхностного заряда (вероятнее всего в ряду  $[PV_3Mo_9O_{40}]^{6-} > [PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-} > [PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ ) вклад неспецифических взаимодействий будут возрастать, что вполне согласуется с увеличением времени элюирования компонентов.

Несмотря на то, что метод ВЭЖХ демонстрирует принципиальную возможность разделения комплексных полиоксометаллатов, для исследования сложных смесей, содержащих большее количество близких по свойствам компонентов, целесообразно применять более эффективные методы, к числу которых можно отнести капиллярный электрофорез и электрохроматографию. Для того чтобы иметь возможность сравнивать результаты, полученные ВЭЖХ и КЗЭ, для обоих методов рассчитывали эффективность разделения, выражающуюся в числе теоретических тарелок  $N$  (см. п. 1.2.6), и разрешение для пар соседних пиков  $R_s$  (см. п. 3.1.1).

Исследование условно-модельной смеси фосфованадомолибдатов в принципе позволяет сравнивать потенциальные возможности двух разделительных методов: КЗЭ и ИП-ОФ-ВЭЖХ. Однако для полноценного сопоставления разделительных возможностей этих методов необходимо рассмотреть вопрос об идентификации регистрируемых аналитических сигналов. Для этой цели целесообразно привлечь другие физико-химические методы исследования, которые в сочетании с сепарационными методами позволят получить необходимую информацию о составе.

### ***3.2.3. Идентификация фосфованадомолибдатов с применением ВЭЖХ-ИСП-АЭС***

Как уже неоднократно упоминалось ранее, идентификация является одной из наиболее важных и сложных задач при исследовании растворов ПОМ. Это связано, главным образом, с отсутствием индивидуальных соединений определенного состава. Несмотря на то, что масс-спектрометрия представляет собой мощный инструмент для изучения состава и строения соединений различных классов, интерпретация масс-спектров ПОМ достаточно сложна, что обусловлено многообразием всевозможных форм ПОМ и отсутствием библиотек масс-спектров соединений данного типа. В этой связи особого внимания заслуживает применение многоэлементного элемент-селективного детектора, например, ИСП-АЭС, который в сочетании с ВЭЖХ и КЗЭ представляется наиболее адекватным подходом для оценки стехиометрии компонентов, образующихся в процессе синтеза.



К сожалению, в литературе отсутствуют публикации, посвященные изучению комплексных ПОМ с применением гибридных и комбинированных методов, сочетающих методы разделения с элемент-селективным детектированием. Авторы публикаций, посвященных сочетанию ВЭЖХ и ИСП-АЭС, как правило, ориентированы на реализацию различных вариантов интерфейса между жидкостным хроматографом и спектрометром, однако чаще всего они связаны с изучением вполне определенных объектов и (или) аналитов. Зачастую, работы направлены на определение того или иного элемента в различных биологических образцах или объектах окружающей среды. В упомянутых работах были испытаны различные типы камер (камеры одноканального и двухканального типов, камеры циклонного типа). Оптимизация состыковочного узла для сочетания ВЭЖХ и ИСП-АЭС играет очень важную роль, так как в зависимости от типа распылителя и камеры достигается различная эффективность использования аэрозоля пробы при соединении с трактом хроматографа, при этом наилучшие результаты были получены при использовании камер циклонного типа. Кроме типа распылительной камеры важным фактором является минимизация объема соединительного тракта, что позволяет уменьшить внеколоночное размывание пиков.

Однако сочетание КЗЭ с детекторами на основе атомно-эмиссионной и атомно-абсорбционной спектрометрии имеет значительные технические ограничения, связанные с малыми объемами пробы (порядка нескольких нанолитров) и малыми значениями (или даже отсутствием) скоростей потока жидкости на выходе из разделительного капилляра при вводе пробы в распылитель источника атомизации и возбуждения спектрометра. В то же время метод ВЭЖХ в принципе позволяет сравнительно легко произвести состыковку с распылительными системами атомно-спектральных приборов.

В рамках настоящего исследования для определения элементного состава компонентов смеси ПОМ на примере комплексных фосфованадомолибдатов применяли многоэлементный метод атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. Разделение проводили в режиме обращенно-фазовой ион-парной хроматографии на колонке ProntoSIL C18 при различных температурах от 35 до 55°C, при этом наиболее качественное разделение аналитических сигналов с точки зрения эффективности и времен удерживания было достигнуто при температуре 40–45°C. В качестве подвижной фазы использовали ацетонитрил и 1% (об.) раствор уксусной кислоты с добавкой 0,04% (масс.) ТБАГ в качестве ион-парного реагента. Разделение проводили в градиентном режиме с постепенным

увеличением концентрации ацетонитрила. Для стабилизации исследуемых комплексов (т.е. поддержания рН на уровне 1,5–3,5) в режиме градиентного элюирования, в ацетонитрил вводили 0,2% об. 0,1М соляной кислоты. В качестве элемент-селективного детектора использовали атомно-эмиссионный спектрометр с индуктивно-связанной плазмой с аксиальным наблюдением плазмы. Для определения элементного состава компонентов смеси применяли режимы *off-line* и *on-line*.

*Режим off-line.* В режиме *off-line* сбор и накопление элюируемых компонентов смеси проводили последовательно вручную, при этом выход фракций из колонки хроматографа контролировали при помощи стандартного спектрофотометрического детектора с учетом времени перемещения зоны по магистрали после выхода из колонки хроматографа до УФ-детектора, принимая во внимание скорость потока элюента. Затем в каждой из отобранных фракций проводили определение содержаний молибдена и ванадия методом ИСП-АЭС. Концентрацию исследуемых комплексных фосфованадомолибдатов в хроматографических пиках оценивали следующим образом: исходный раствор условно-модельной смеси с концентрацией  $10^{-2}$ М (примерная концентрация полученных в ходе реакции комплексов) перед вводом в хроматографическую колонку разбавляли в 40 раз (до концентрации порядка  $2,5 \cdot 10^{-4}$ М во избежание перегрузки колонки, которая наблюдалась при более высоких концентрациях порядка  $10^{-3}$ М), после чего 2 мкл этого раствора вводили в колонку. Ширина пика на выходе из колонки (время от начала выхода пика до его конца), в среднем составляла 2 минуты. Принимая во внимание, что скорость потока 200 мкл/мин, можно считать, что концентрация комплекса во фракциях, подвергаемых элемент-селективному детектированию, снижалась еще в 200 раз и составляла порядка  $10^{-6}$ М (около 1 мг/л). Регистрацию хроматограммы производили на длинах волн 250 и 300 нм. Так как пределы обнаружения молибдена по линии 202,03 нм и ванадия по линии 292,4 нм для данной модификации ИСП-АЭС-спектрометра составляют 0,5 и 1,0 мкг/л соответственно, а расчет степени размывания пика на пути от выхода из колонки до детектора не представляется возможным, то для надежной регистрации спектральных линий аналитов проводили накопление фракций (порядка 200 мкл для фракций 1 и 2, и 500 мкл для фракции №3), отбирая при накоплении только среднюю часть элюируемой зоны (то есть область ближе к вершине пика). Для проведения однократного анализа методом ИСП-АЭС необходим объем пробы не менее 2,5 мл, поэтому отобранные фракции разбавляли в 12,5 (№1 и №2) и в 5 раз (№3) соответственно, что позволило обеспечить концентрацию комплекса в приготовленных растворах на уровне  $10^{-7}$ М, т.е. порядка 100 мкг/л (молекулярный вес

исследуемых компонентов составляет 1687,16 г/моль для  $[PV_3Mo_9O_{40}]^{6-}$ , 1732,2 г/моль  $[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$  1777,24 г/моль  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ .

Существенным моментом подготовки проб к анализу являлась процедура удаления ацетонитрила (выпаривание под ИК-лампой в чашках из фторопласта при температуре  $\leq 70^\circ C$ ) с последующим доведением объема до 2,5 мл деионизованной водой., т.к. присутствие легкокипящего растворителя ( $t_{кип.}=81,6^\circ C$ ) в составе аэрозоля пробы на уровне  $\geq 50\%$  (об.) приводит к нестабильному горению ИС-плазмы и даже к ее гашению. Для каждой из фракций проводили по три параллельных отбора и определения содержаний молибдена и ванадия в них.

Определение содержаний элементов в полученных растворах проводили по методу внешнего стандарта с применением серии градуировочных растворов с известным содержанием молибдена и ванадия. К сожалению, оценить содержание фосфора в исследуемых образцах не удалось, так как предел обнаружения фосфора в ИСП-АЭС выше, чем его содержание в пробах ( $\sim 100$  мкг/л, так как в соответствии с общей формулой исследуемых ПОМ  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$  концентрация фосфора равна концентрации комплекса в растворе) [292]. По этой причине стехиометрию комплексов оценивали по содержанию ванадия и молибдена. Результаты расчета соотношений элементов, соответствующие каждой из отобранных фракций, представлены в таб. 6. Достаточно высокие (до 10%) значения отклонения полученных соотношений от теоретически ожидаемых стехиометрических соотношений элементов в компонентах смеси могут быть связаны с погрешностью, обусловленной невозможностью корректного отбора фракций в ручном режиме.

Т а б л и ц а 6

### Результаты определения соотношений Мо/V

Фракция (номер пика на хроматограмме)	Концентрация Мо, мг/л	Концентрация V, мг/л	Мо/V (ИСП-АЭС)	Предполагаемый состав комплекса
1	17,1 $\pm$ 3,2	3,4 $\pm$ 0,3	2,7 $\pm$ 0,3	$PV_3Mo_9$
2	44,6 $\pm$ 6,8	5,2 $\pm$ 0,8	4,5 $\pm$ 0,3	$PV_2Mo_{10}$
3	15,4 $\pm$ 2,0	0,8 $\pm$ 0,1	10,0 $\pm$ 0,2	$PVMo_{11}$

*Примечание:*

результаты получены методом ВЭЖХ-ИСП-АЭС в *off-line* режиме для фракций 1, 2, 3 (см. хроматограмму на рис. 9)

*Режим on-line.* Для проведения ВЭЖХ-ИСП-АЭС-элемент-селективного детектирования в режиме *on-line* принципиальным моментом является организация стыковочного узла для сочетания выхода из разделительной колонки жидкостного хроматографа с системой транспортировки образца в распылительную систему

спектрометра. В рамках предложенного нами технического решения проблемы элюент на выходе из колонки поступал непосредственно в распылительную камеру, минуя перистальтический насос, который использовали только для удаления избытка жидкости из распылительной камеры. Скорость потока элюента, создаваемого шприцевым насосом, составляла 200 мкл/мин.

Однако реализация гибридного метода ВЭЖХ-ИСП-АЭС накладывает серьезные ограничения на состав подвижной фазы, а именно, на содержание органического растворителя, в присутствии которого нарушается равновесие в плазме вплоть до ее гашения. Оказалось, что при содержании в элюенте ацетонитрила на уровне 70–80% (об.) ИС-плазма гаснет, а при разделении ПОМ в изократическом режиме, даже при постоянной концентрации ацетонитрила на уровне 50%, существенно снижается эффективность разделения. Следует отметить, что применение микроколоночной ВЭЖХ является в данной ситуации существенным преимуществом, т.к. обеспечивает минимальную загрузку плазмы по органическому веществу.

В практике сочетания ВЭЖХ и ИСП-АЭС для устранения негативного эффекта органического растворителя применяют следующие приемы [293]:

- термостатирование аэрозоля пробы;
- охлаждение распылительной камеры;
- использование конденсаторов-холодильников.

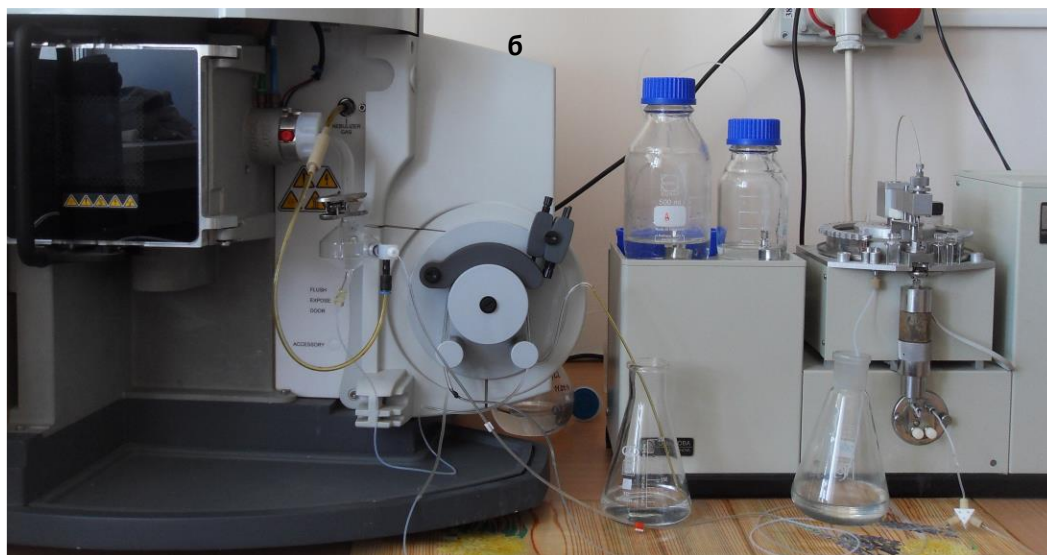
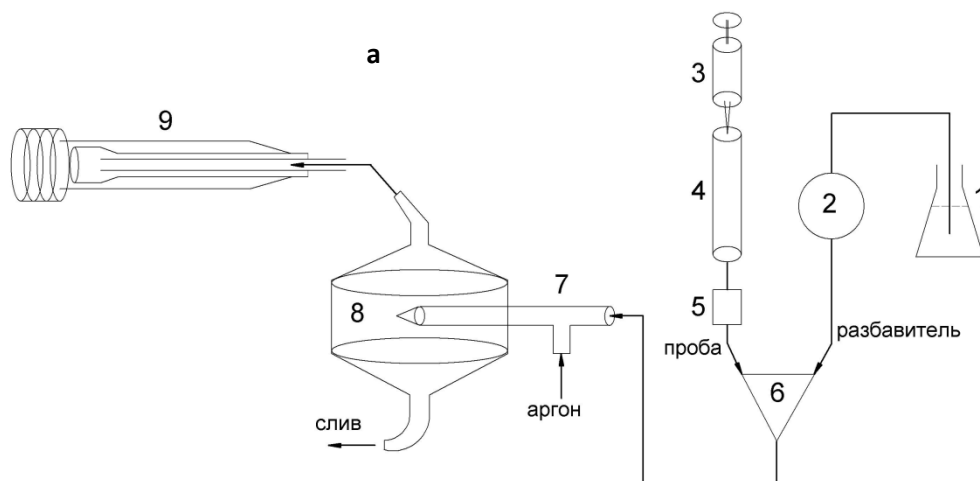
В случае необходимости перевода элемента в летучую форму (для гидридообразующих элементов) между выходом из колонки и распылителем устанавливают гидридный генератор.

Однако все вышеперечисленные приемы, как правило, реализуются для достижения минимальных пределов обнаружения аналитов, что не являлось целью настоящего исследования.

В данной работе был предложен подход, основанный на разбавлении поступающей из колонки в распылительную камеру жидкости деионизованной водой. Для обеспечения оптимального режима перемешивания применяли тройник из полиэтилена, один из входов которого служил для подачи потока элюента из хроматографической колонки, а другой – для подачи деионизованной воды с помощью перистальтического насоса спектрометра. Выход тройника соединяли непосредственно с распылителем ИСП-АЭС-спектрометра. Схема состыковки хроматографа и камеры распылителя ИСП-АЭС представлена на рис. 12, а.

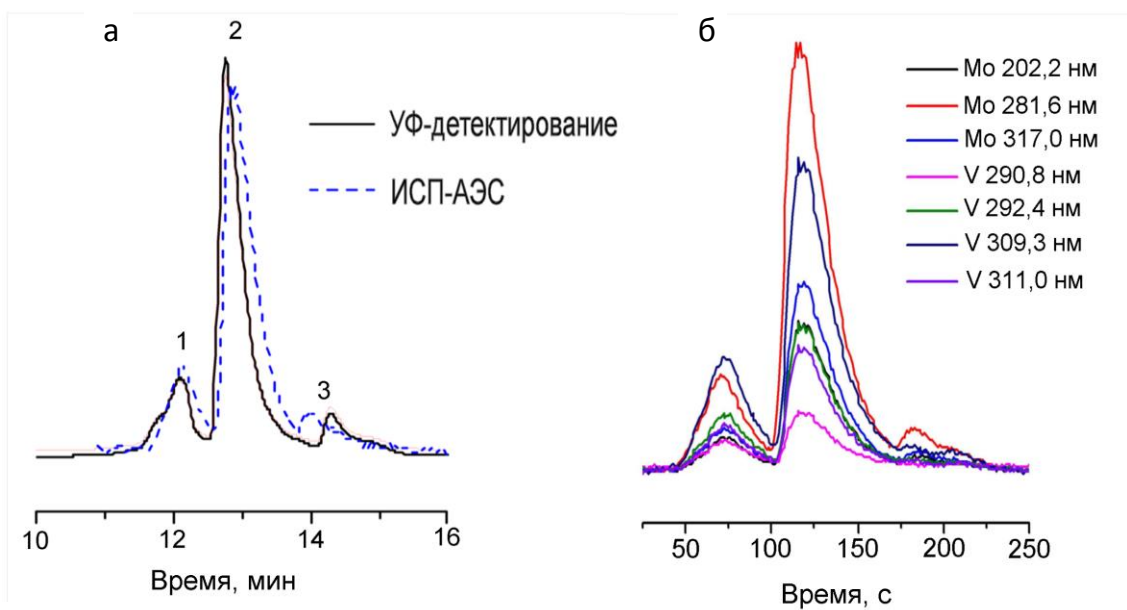
Скорость потока разбавителя, подающегося в смеситель, варьировали в интервале 0,2–3,0 мл/мин (5–75 об./мин перистальтического насоса соответственно), при этом оптимальное значение подбирали экспериментально. Так, оказалось, что при потоках, меньших, чем 2 мл/мин, по-видимому, не происходило достаточного разбавления элюента, и плазма гасла еще до завершения формирования хроматограммы. В то же время при скорости потока деионизованной воды, превышающей 3 мл/мин, также наблюдалось гашение плазмы, вероятно, вследствие возрастания содержания воды в аэрозоле, поступающем в плазму. Кроме того, увеличение степени разбавления пробы снижает концентрации аналитов в анализируемом растворе, а значит, ведет к возрастанию погрешности их определения. Следует отметить также, что при скорости потока разбавителя, превышающей 3 мл/мин, наблюдалось возрастание шума сигнала детектора.

Стабильное состояние плазмы и оптимальные значения величин аналитических сигналов были достигнуты при скорости потока элюента 200 мкл/мин и разбавителя - 2000 мкл/мин. При этих условиях наблюдалось стабильное горение плазмы даже при максимальных в используемом градиентном профиле значениях концентрации ацетонитрила (60–70%). В применяемом нами гибридном методе ВЭЖХ-ИСП-АЭС был реализован вариант последовательного двойного детектирования, а именно УФ - ИСП-АЭС. Использование двух детекторов (ИСП-АЭС и спектрофотометрического) в тандеме позволяет регистрировать общее число компонентов в растворе, определять состав этих компонентов, а также выбрать условия для обеспечения оптимальных параметров разделения, а именно, эффективности и разрешения для пар соседних пиков.



**Рис. 12.** Схема состыковки тракта хроматографа и распылителя атомно-эмиссионного спектрометра (а) и фото узла стыковки (б). 1 – деионизованная вода-разбавитель, 2 – стандартный перистaltический насос спектрометра, 3 – шприцевой насос хроматографа, 4 – колонка, 5 – спектрофотометрический детектор хроматографа, 6 – тройник, 7 – распылитель, 8 – камера распылителя, 9 – горелка спектрометра

Хроматограмма условно-модельной смеси ПОМ в режимах ИСП-АЭС и УФ-детектирования представлена на рис. 13, а.



**Рис. 13.** Хроматограммы смеси фосфованадомолибдатов состава  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-3-x}$  в режиме ВЭЖХ-УФ (а) при 250 нм и в режиме ВЭЖХ-ИСП-АЭС (б). 1 –  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ , 2 –  $[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$ , 3 –  $[PV_3Mo_9O_{40}]^{6-}$

Так как концентрация комплексов ПОМ в элюируемых фракциях соответствует уровню  $\sim 1$  мг/л, а интенсивность регистрируемых линий фосфора с учетом размывания пика в состыковочном узле оказалась ниже предела обнаружения, то в *on-line* режиме не удалось корректно записать хроматограммы в координатах «время выхода пика – интенсивность аналитического сигнала фосфора». Поэтому, как и в режиме *off-line*, для установления состава компонентов смеси ПОМ использовали соотношения интенсивностей линий молибдена и ванадия. Хроматограммы регистрировали в координатах «интенсивность сигнала – объем элюента» для трех линий молибдена и четырех линий ванадия (рис. 13, б). Для расчетов были выбраны наиболее интенсивные линии, а именно: линии молибдена 202,03 нм, 281,64 нм и 317,03 нм, ванадия – 292,40 нм, 311,04 нм.

Оказалось, что значительного уширения пиков при транспорте зон от выхода из спектрофотометрического детектора до распылителя ИСП-АЭС не происходило (рис. 13, а). Видно, что эффективность разделения снижается незначительно, при этом разрешения для пар пиков на уровне  $R_{2,3}=1,4$  для ИСП-АЭС детектора можно считать вполне удовлетворительным (хорошим принято считать разрешение порядка  $R=1,5$  и выше).

Определения содержаний молибдена и ванадия по суммарной площади хроматографического пика (для каждого из элементов для всех выбранных линий)

для каждого из комплексов проводили по методу внешнего стандарта, в качестве которых применяли растворы, содержащие молибден в виде  $\text{MoO}_4^{2-}$ , ванадий в виде  $\text{VO}_3^-$  и фосфор в виде дигидрофосфат-иона. Для этой цели были приготовлены три серии растворов, содержащих вышеперечисленные компоненты (P, V и Mo) в соотношениях, соответствующих стехиометрии исследуемых комплексов (табл. 7).

Т а б л и ц а 7

**Состав градуировочных растворов для определения состава комплексов в *on-line* режиме**

№ серии растворов	Фосфованадомолибдат	Концентрация V, мМ	Концентрация Мо, мМ
1	$\text{PVMo}_{11}$	0,1	1,1
		0,5	5,5
		1,0	11,0
2	$\text{PV}_2\text{Mo}_{10}$	0,2	1,0
		1,0	5,0
		2,0	10,0
3	$\text{PV}_3\text{Mo}_9$	0,3	0,9
		1,5	4,5
		3,0	9,0

По градуировочным графикам определяли концентрации элементов во фракциях (пиках) на выходе из колонки, затем по этим данным рассчитывали мольные соотношения элементов для каждой из фракций. Оказалось, что установленный экспериментально состав комплексов вполне соответствует стехиометрии, которая была предложена, исходя из данных ЯМР и результатов, полученных с помощью ВЭЖХ-УФ и КЗЭ-УФ, а именно: пик 1 соответствует комплексу  $[\text{PV}_3\text{Mo}_9\text{O}_{40}]^{3-}$ , пик 2 –  $[\text{PV}_2\text{Mo}_{10}\text{O}_{40}]^{4-}$ , пик 3 – комплексу  $[\text{PVMo}_{11}\text{O}_{40}]^{5-}$  (табл. 8).

Т а б л и ц а 8

**Экспериментально найденные атомные соотношения молибдена и ванадия с применением ВЭЖХ-ИСП-АЭС**

№ пика	Теоретическое соотношение Мо/V	Содержание Мо, мг/л	Содержание V, мг/л	Эксперимент. соотношение Мо/V	Состав комплекса
1	3,0	16,5±1,4	5,4±0,3	3,0±0,3	$\text{PV}_3\text{Mo}_9$
2	5,0	42,7±5,1	8,7±1,0	4,8±0,5	$\text{PV}_2\text{Mo}_{10}$
3	11,0	14,9±0,8	1,4±0,2	10,6±0,8	$\text{PVMo}_{11}$



Кроме того, для расчета стехиометрического соотношения молибдена и ванадия в компонентах смеси (хроматограмма на рис. 13) применяли подход, в основу которого легла гипотеза об их предполагаемом составе. Так как для каждого элюируемого компонента соотношение абсолютных количеств молибдена и ванадия постоянно, то постоянным будет и соотношение аналитических сигналов этих элементов на хроматограмме в координатах «время выхода пика – интенсивность аналитического сигнала элемента» для выбранных спектральных линий. Для этих линий были рассчитаны отношения интегральных интенсивностей, а затем – отношения полученных значений для молибдена к таковым для ванадия. Данная операция была проведена для всех шести возможных комбинаций выбранных ранее линий в спектре Mo (202,0 нм, 281,6 нм, 317,0 нм) и V (292,4 нм, 311,0 нм). Таким образом, для каждого из элементов (Mo и V) были рассчитаны соотношения площадей для пиков 1, 2 и 3 на хроматограмме (рис. 9). Для каждой пары пиков ( $i$  и  $j$ ) рассчитывали величину  $X_{ij}$ , которую затем сравнивали с расчетным значением, исходя из предполагаемого состава комплекса:

$$\frac{s_i^{Mo} s_j^V}{s_j^{Mo} s_i^V} = X_{ij} \quad (8),$$

где  $S_i^{Mo}$  – площадь  $i$ -го пика на хроматограмме для молибдена,  $S_i^V$  – площадь  $i$ -го пика для ванадия.

Тогда, принимая во внимание, что площадь пика пропорциональна количеству абсолютному содержанию соответствующего элемента в зоне, выходящей из колонки,  $X_{ij}$  можно записать как:

$$X_{ij} = \frac{s_i^{Mo} s_j^V}{s_j^{Mo} s_i^V} = \frac{n_i a s_i^{Mo} m_j b s_j^V}{n_j b s_j^{Mo} m_i a s_i^V} \quad (9),$$

где  $n_i$  и  $n_j$  – количества атомов молибдена в комплексах, соответствующих  $i$ -му и  $j$ -му пику соответственно (стехиометрические коэффициенты для атомов Mo),  $m_i$  и  $m_j$  – количества атомов ванадия соответственно,  $s^{Mo}$  – площадь пика, соответствующая количеству комплекса, приходящегося на один атом молибдена, а  $s^V$  – то же для ванадия,  $a$  и  $b$  – некие коэффициенты, учитывающие количество (концентрацию) комплекса в пике.

Произведение площадей пиков, нормированных на количество атомов элементов в комплексах с учетом концентрации комплексов в соответствующих пиках будет равно 1, то есть величина  $X_{ij}$  будет определяться как отношение стехиометрических коэффициентов элементов в соответствующих комплексах:

$$X_{ij} = \frac{n_i m_j}{n_j m_i} \quad (10)$$

Для каждой из пар комплексов соотношения, полученные из экспериментальных данных, были сопоставлены с расчетными теоретическими значениями в соответствии с их предполагаемым составом (табл. 9).

Т а б л и ц а 9

**Рассчитанные и полученные экспериментально значения  $X_{ij}$**

$ij$		$X_{ij}$ эксперимент. ср.	$X_{ij}$ рассчит.
21	$[PV_3Mo_9O_{40}]^{6-}/[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$	1,65±0,17	1,67
23	$[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}/[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$	2,36±0,26	2,20
31	$[PV_3Mo_9O_{40}]^{6-}/[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$	3,73±0,41	3,67

*Примечание:*

в качестве экспериментально установленных соотношений приведены средние значения по всем комбинациям спектральных линий молибдена и ванадия.

Таким образом, на основании полученных данных, можно полагать, что пик 1 на хроматограмме соответствует комплексу  $[PV_3Mo_9O_{40}]^{6-}$ , пик 2 –  $[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$ , пик 3 –  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ .

Предложенный способ расчета является подтверждением того, что гипотеза о предполагаемом составе комплексов верна. При этом данные, полученные в *off-line* и *on-line* режимах, хорошо согласуются между собой (табл. 10). Таким образом, применение в качестве элемент-селективного детектора ИСП-АЭС позволило провести прямую идентификацию комплексов фосфованадомолибдатов, входящих в состав исследуемой смеси.

Т а б л и ц а 10

**Соотношение Mo/V, полученное при анализе фракций методом ИСП-АЭС в режимах *off-line* и *on-line***

№ пика	Предполагаемый состав комплекса	Соотношение Mo/V <i>on-line</i>	Соотношение Mo/V <i>off-line</i>
1	$PV_3Mo_9$	3,0±0,3	2,7±0,3
2	$PV_2Mo_{10}$	4,8±0,5	4,5±0,3
3	$PVMo_{11}$	10,6±0,8	10,0±0,2

**3.2.4. Особенности применения сепарационных методов для исследования полиоксометаллатов**

*ВЭЖХ.* Одним из важных преимуществ ВЭЖХ является достаточно высокая селективность разделения  $\alpha = \frac{t'_{R1}}{t'_{R2}}$ , которая, в свою очередь, зависит от разрешения

компонентов исследуемой смеси. В реализуемых нами условиях для пар пиков были достигнуты значения разрешения  $R_{1,2}=1,8$  и  $R_{2,3}=3,9$  при достаточно низкой эффективности разделения на уровне 4000 теоретических тарелок (см. рис. 6 и 7). Однако при изучении сложных многокомпонентных смесей подобная ситуация представляет собой весьма серьезное ограничение.

При использовании обращенно-фазовой ион-парной ВЭЖХ следует также принимать во внимание возможность образования в растворе малорастворимых ассоциатов комплексных анионов с катионами четвертичных аммониевых оснований (ТМЦА и ТБА), что приводит к необратимому снижению эффективности колонки даже при градиентном режиме элюирования ацетонитрилом (от 10 до 100%, 9,6%/мин). Несмотря на то, что в режиме градиентного элюирования в присутствии ацетонитрила растворимость ионных ассоциатов возрастает, в большинстве случаев полностью устранить это препятствие не представляется возможным, при этом срок эксплуатации колонки составляет около 100 разделений, после чего требуется тщательная промывка колонки и замена входного фильтра.

Несомненно, существенным достоинством ВЭЖХ является возможность реализации достаточно простой состыковки с элемент-селективным детектором в режиме *on-line*, а также возможность отбора фракций в режиме *off-line* для установления стехиометрии исследуемых соединений.

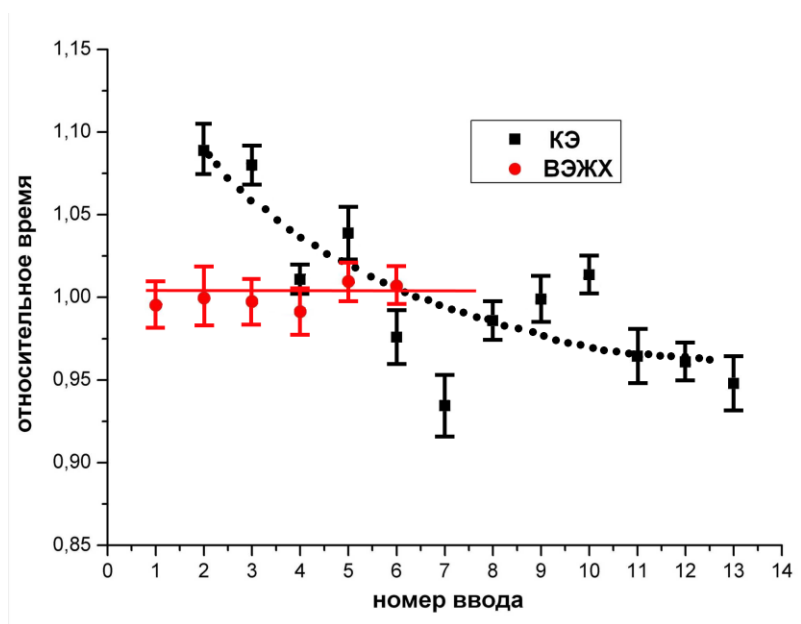
*КЗЭ.* Как известно, в основе разделения методом капиллярного электрофореза лежит различие в скоростях миграции разделяемых частиц в электрическом поле. Метод КЗЭ характеризуется высокой эффективностью разделения по сравнению с ВЭЖХ, обусловленной плоским профилем потока в отличие от параболического профиля в ВЭЖХ. При разделении условно-модельной смеси фосфованадомолибдатов ( $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$ ,  $x=1-3$ ) методом КЗЭ была достигнута эффективность на уровне 40000–50000 теор. тар. и выше. Однако оказалось, что при этом разрешение компонентов смеси относительно мало (например,  $R_{1,2}=1,5$ ). Можно предположить, что подобный эффект связан с формированием затянутого заднего фронта аналитов, появление которого является следствием адсорбции разделяемых компонентов смеси на поверхности кварцевого капилляра.

Сопоставляя возможности и особенности ВЭЖХ и КЗЭ, в дополнение к сказанному выше, следует отметить, что для ВЭЖХ характерна лучшая воспроизводимость времен удерживания по сравнению с КЗЭ. Одна из причин подобного явления связана с техническими сложностями воспроизводимого ввода малых объемов пробы, типичных для КЗЭ (в ВЭЖХ объем вводимый пробы порядка

нескольких микролитров, а для КЗЭ – порядка нескольких нанолитров). Другой причиной разброса времен выхода компонентов смеси является модификация поверхности капилляра гетерополимолибдат-ионами. На рис. 14 представлены результаты, характеризующие изменение времен удерживания (ВЭЖХ) и времен миграции (КЗЭ) для ряда последовательных вводов пробы на примере фосфомолибдат-иона  $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ . Значение относительного стандартного отклонения (RSD) рассчитывали по формуле:

$$RSD = \frac{\sqrt{\sum_i^n \frac{(x_i - x_{cp})^2}{n-1}}}{x_{cp}} \quad (11),$$

где  $x_i$  – время миграции  $i$ -го компонента,  $x_{cp}$  – среднее значение времени миграции,  $n$  – количество параллельных вводов пробы. Для КЗЭ ( $n=13$ ) RSD составило 0,035, а для ВЭЖХ ( $n=6$ ) – 0,0062. При этом наблюдается явная тенденция к уменьшению времени миграции компонентов для КЗЭ, что, можно рассматривать как косвенное подтверждение факта модификации поверхности капилляра гетерополимолибдат-ионами при многократном вводе пробы.



**Рис. 14.** Зависимость нормированного времени миграции (удерживания) компонентов пробы от количества последовательных вводов. Времена нормированы на свои средние значения

Идентификация аналитических сигналов в КЗЭ-УФ представляет серьезную проблему для аналитов с близкими характеристиками спектров поглощения, что как раз типично для полиоксометаллатов. Применение элемент-селективного детектора связано с необходимостью использования специального интерфейса, обеспечивающего дополнительный поток так называемой «добавочной» жидкости,

что в свою очередь значительно снижает концентрацию определяемых компонентов в элюате, а, следовательно, возможно только в сочетании с высокочувствительными детекторами, такими как, например, ИСП-МС.

На первый взгляд, представляется целесообразным проводить идентификацию по временам миграции пиков, однако подобный подход имеет свои ограничения. Так, например, в табл. 11 приведены расчетные значения электрофоретических подвижностей фосфованадомолибдатов. Расчет проводили по формуле:

$$\mu_i = \frac{L_{эфф}L_{общ}}{t_i U} \quad (12),$$

где  $L_{общ}$  – общая длина капилляра,  $L_{эфф}$  – длина капилляра от входного конца до окна детектора,  $t_i$  – время миграции  $i$ -го компонента,  $U$  – напряжение разделения. При малых различиях в подвижностях (порядка 7% и ниже) величина достигаемого разрешения недостаточна для того, чтобы обеспечить разделение пиков до базовой линии (рис. 9). Так как рассчитанные значения подвижностей весьма близки, можно предположить, что частицы обладают примерно одинаковым эффективным зарядом (при условии близких значений гидродинамических радиусов) в данных условиях (0,1М монохлоруксусный электролит, pH=2,8).

Т а б л и ц а 11

**Рассчитанные значения электрофоретической подвижности компонентов исследуемой смеси ГПС состава  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$**

Комплекс	Электрофоретическая подвижность, см <sup>2</sup> /кВ·с	Нормированная подвижность $\mu_i/\mu([PV_3Mo_9O_{40}]^{6-})$
$[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$	0,43(±0,01)	1,04(±0,01)
$[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$	0,44(±0,01)	1,07(±0,01)
$[PV_3Mo_9O_{40}]^{6-}$	0,41(±0,01)	1,00(±0,01)

По этой причине данные по электрофоретическим подвижностям без информации об эффективных зарядах комплексов не позволяют провести идентификацию пиков, так как степень протонирования комплексных анионов неизвестна. В рассматриваемом нами конкретном случае соотношение электрофоретических подвижностей и порядок миграции отличаются от ожидаемых, основанных на значениях номинальных зарядов и предположении о равенстве гидродинамических радиусов ионов, что указывает на некорректность применяемого подхода.

Если принять эффективный заряд комплексного аниона равным номинальному, то из величины отношения эффективного заряда к гидродинамическому радиусу, рассчитанной из формулы

$$\mu = \frac{zF}{6\pi\eta r} \quad (13),$$

где  $z$  – заряд частицы,  $F$  – число Фарадея,  $r$  – радиус сольватированной частицы,  $\eta$  – вязкость среды, можно оценить размеры сольватированных частиц (таб. 12)

Т а б л и ц а 12

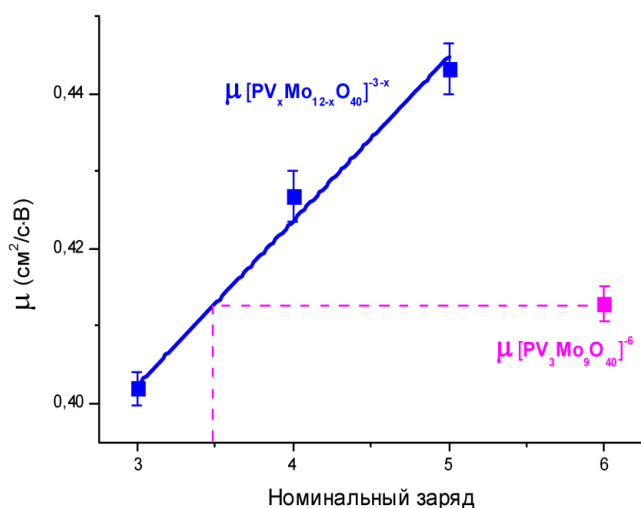
**Отношения  $z/r$  и оценочные размеры комплексных анионов ПОМ**

Комплекс	$z/r$	$r$ (нм)
$[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$	$6,02 \cdot 10^9$	0,83
$[\text{PVMo}_{11}\text{O}_{40}]^{4-}$	$5,63 \cdot 10^9$	0,71
$[\text{PV}_2\text{Mo}_{10}\text{O}_{40}]^{5-}$	$5,47 \cdot 10^9$	0,55
$[\text{PV}_3\text{Mo}_9\text{O}_{40}]^{6-}$	$5,82 \cdot 10^9$	1,03

В принципе, применяя метод КЗЭ, и, приняв некоторые допущения, можно оценить эффективный заряд частицы в растворе. Для того чтобы провести более точную оценку, учитывающую различные степени протонирования анионов, необходимы дополнительные исследования.

На рис. 15 приведена экспериментально найденная

зависимость электрофоретических подвижностей комплексных анионов от заряда: как и следовало ожидать, она имеет линейный характер, однако, значение подвижности комплекса  $[\text{PV}_3\text{Mo}_9\text{O}_{40}]^{6-}$ , не подчиняется общей тенденции уменьшения подвижности частицы с ростом ее номинального заряда. С другой стороны, аномально низкое значение подвижности комплекса  $[\text{PV}_3\text{Mo}_9\text{O}_{40}]^{6-}$  можно объяснить либо тем, что комплекс обладает значительно меньшим по сравнению с остальными, эффективным зарядом, либо большим размером гидратной оболочки, либо влиянием обоих факторов.



**Рис. 15.** Зависимость электрофоретической подвижности от номинального заряда комплексных фосфомолибдованатов

Наблюдение и интерпретация подобных эффектов может служить источником дополнительной информации о состоянии ПОМ в растворах, что также является важным достоинством метода КЗЭ.

Обобщая результаты исследования смеси ГПС состава  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$  методами КЗЭ и ВЭЖХ можно сделать следующее заключение:

– воспроизводимость времен миграции (удерживания) продуктов реакции в ВЭЖХ выше, чем в КЗЭ.

– эффективность разделения в ВЭЖХ ниже, чем в КЗЭ, поэтому изучение сложных многокомпонентных систем, содержащих близкие по составу и структуре формы, с применением хроматографических методов может быть затруднено.

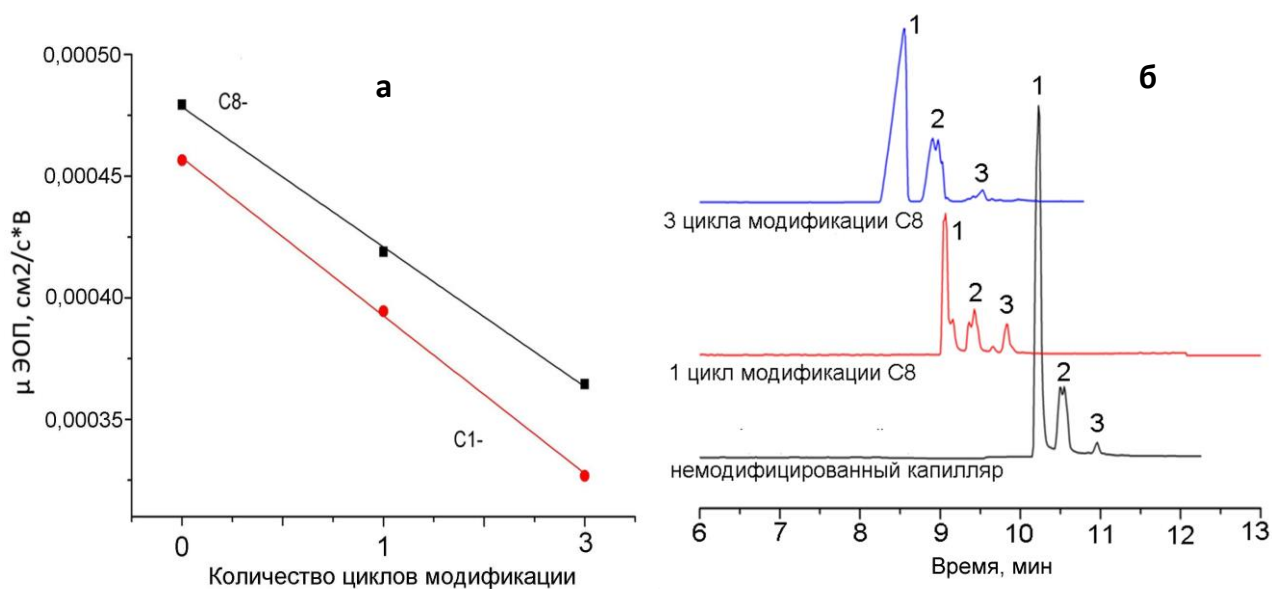
– для КЭ характерна высокая пиковая емкость, т.е. число пиков с разрешением, равным единице, которые могут размещаться на определенном временном отрезке электрофореграммы, что позволяет выполнить разделение большого числа компонентов за относительно короткое время.

В то же время, в ряде случаев эффективности КЗЭ недостаточно для разделения компонентов до базовой линии из-за низкой селективности, а, следовательно, и для корректного количественного определения компонентов. Для повышения селективности разделения нами был предложен и применен подход, основанный на модификации внутренней поверхности капилляра неполярными группами.

### **3.2.5. Модификация кварцевого капилляра для разделения ПОМ состава $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$ методом КЭ**

Одной из причин возникновения затянутого заднего фронта для всех присутствующих на электрофореграмме пиков может являться адсорбция разделяемых комплексов на стенках кварцевого капилляра. Можно предположить, что модификация его поверхности неполярными группами приведет к ослаблению такого рода взаимодействий, благодаря которым формируется затянутый задний фронт пиков, отвечающих комплексным формам  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$ .

Модификация стенок капилляра – традиционный прием, применяемый для снижения степени взаимодействия компонентов пробы и буфера со стенками капилляра, а также снижения (устранения или обращения) ЭОП с целью увеличения скорости и эффективности разделения [191]. Модификацию можно проводить либо путем фиксации покрытия за счет физической адсорбции (например, органического полимера), либо путем ковалентного связывания молекул модифицирующего агента с силанольными группами на поверхности кварцевого капилляра. Для получения статического ковалентного покрытия обычно проводят дериватизацию силанольных групп на поверхности кварца силанизирующими реагентами (галоген-, алкоксисиланами, дисилазанами и т.д.), которые могут быть подвергнуты дальнейшим превращениям, если это потребуется.. Такие реагенты могут образовывать с силанольными группами одну или несколько силоксановых групп Si–O–Si [294].



**Рис. 16.** Зависимость подвижности, рассчитанной для ЭОП, от количества циклов модификации (а). Разделительный электролит – боратный буфер (0.05M, pH=9.2). Электрофореграммы смеси комплексов состава  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$ , полученные на капиллярах с различной степенью модификации поверхности (б). Разделительный электролит на основе монохлоруксусной кислоты (0,1M, pH=2,5), -17 кВ, 250 нм, пневматический ввод пробы (300 мбар·с). 1 –  $[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$ , 2 –  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ , 3 –  $[PV_3Mo_9O_{40}]^{6-}$

С одной стороны, при модификации поверхности кварца неполярными группами уменьшается взаимодействие разделяемых анионов с поверхностью кварца, что устраняет эффект их сорбции на поверхности из-за частичного экранирования. В то же время, из-за того, что часть силанольных групп на поверхности кварца



дезактивирована, снижается их поверхностная концентрация, а, следовательно, и скорость электроосмотического потока (ЭОП).

В настоящей работе в качестве модифицирующих (силанизирующих) агентов применяли гексаметилдисилазан и диоктилтетраметилдисилазан, при этом на поверхности фиксировали метильные (C<sub>1</sub>) и октильные (C<sub>8</sub>) группы. Использование реагентов с разной длиной алкильного фрагмента, предположительно, позволило бы определить, для каких из алкильных групп (сравнительно объемных октильных групп или небольших метильных) степень покрытия поверхности будет больше, а значит, и снижение скорости ЭОП будет сильнее.

Для подготовленных описанным выше способом капилляров была проведена оценка скорости ЭОП. Оказалось, что для капилляров, подвергнутых однократной модификации, скорость ЭОП незначительно отличалась от таковой для немодифицированного капилляра, что указывает на низкую степень дезактивации силанольных групп на поверхности. При увеличении числа циклов модификации, наблюдалось снижение скорости ЭОП (рис. 16, а), причем величина эффекта практически не зависела от длины алкильного радикала модификатора, хотя следовало ожидать, что благодаря меньшему размеру метильная группа из-за отсутствия стерических затруднений обеспечивает более высокую степень покрытия поверхности. Однако увеличение числа циклов модификация ухудшало эксплуатационные характеристики капилляра, т.е. приводило к возрастанию хрупкости, скорее всего, из-за разрушения внешнего защитного полимерного покрытия при термическом воздействии.

На рис. 16, б приведены результаты разделения смеси ПОМ состава  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$  методом КЗЭ на модифицированных капиллярах. Видно, что снижение скорости ЭОП приводит к уменьшению времен миграции компонентов, при этом величины разрешения  $R_s$  для пар соседних пиков 1–2 и 2–3 увеличиваются. В то

**Т а б л и ц а 13**  
**Коэффициент разделения пиков для капилляров с различной степенью модификации**

Количество циклов модификации	$R_{1,2}$	$R_{2,3}$
0	1,5	2,5
1	1,7	2,6
3	2,6	3,5

же время, несмотря на исчезновение затянутых задних фронтов пиков, наблюдается уширение самих пиков, что снижает эффективность разделения. Рассчитанные значения разрешений пиков 1–2 и 2–3 для и немодифицированных и модифицированных капилляров приведены в табл. 13.

Таким образом, основываясь на полученных результатах, можно полагать, что исследование сложных многокомпонентных смесей, для разделения компонентов которых необходима высокая эффективность целесообразно проводить на немодифицированном капилляре. В то же время при анализе смесей, содержащих небольшое число компонентов с близкими значениями подвижностей, для разделения которых необходима высокая селективность, лучше применять модифицированный неполярными группами капилляр.

### **3.3. Заключение**

Из результатов проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

– Несмотря на то, что ВЭЖХ не обеспечивает высокой эффективности разделения, для данного метода характерна более высокая по сравнению с КЗЭ селективность, необходимая при изучении смесей веществ с близкими значениями электрофоретических подвижностей, для разделения которых необходимо введение дополнительных факторов, таких как, например, взаимодействие с НФ. Кроме того, ВЭЖХ обеспечивает более высокую в сравнении с КЗЭ воспроизводимость величин аналитических сигналов. Путем варьирования типов НФ, состава элюентов и условий разделения ВЭЖХ позволяет варьировать селективность разделения в широких пределах. И, наконец, возможность сочетания ВЭЖХ с элемент-селективным детектором без специального интерфейса позволяет идентифицировать компоненты системы по их химическому составу.

– Для метода КЗЭ характерна большая эффективность, что позволяет при тщательном подборе условий обеспечить разделение многокомпонентных смесей. Благодаря плоскому профилю и практически полному отсутствию явления поперечной диффузии ширина формируемых пиков меньше, чем в ВЭЖХ, и, следовательно, выше пиковая емкость. Таким образом, КЗЭ предоставляет огромные возможности для разделения смесей, содержащих большое количество компонентов. Кроме того, в ряде случаев отсутствие необходимости применения ион-парных реагентов снимает ограничения, связанные с возможностью образования малорастворимых соединений ПОМ. Модификация внутренней поверхности кварцевого капилляра приводит к повышению селективности разделения исследуемых фосфованадомолибдат-анионов и устранению эффекта затянутых задних фронтов пиков, однако ожидаемого увеличения эффективности разделения не происходит из-за искажения формы пиков.

– Кроме того, метод КЗЭ позволяет достаточно просто проводить оценку некоторых параметров заряженных частиц (например, оценивать размеры сольватированных частиц), в силу чего представляется более информативным.

В целом, результаты, полученные при изучении состава смеси фосфованадомолибдатов с применением КЗЭ и ОФ-ИП-ВЭЖХ вполне удовлетворительно согласуются друг с другом и с данными  $^{51}\text{V}$ -ЯМР. Как уже отмечалось, количество разнообразных полиоксометаллатов достаточно велико, а селективный синтез или выделение индивидуальных соединений для многих из них весьма затруднителен и даже невозможен, по этой причине идентификация компонентов требует других подходов. В ряде случаев подход, основанный на предположении о соответствии зарядов комплексов их номинальным значениям, для расчета подвижностей и последующей идентификации электрофоретических сигналов не дает корректных результатов, так как невозможно точно установить эффективный заряд ионов в условиях КЗЭ. Для надежной идентификации компонентов смеси ПОМ наиболее целесообразным представляется применение комплекса методов, в том числе гибридных, таких как ВЭЖХ-ИСП-АЭС, КЗЭ-ИСП-МС и др.

## **ГЛАВА 4. Применение сепарационных методов для изучения различных типов ПОМ**

Кроме основных групп полиоксометаллатов, представленных поливольфраматами, поливанадатами и полимолибдатами, заслуживают внимания ПОМ на основе тантала и ниобия, демонстрирующие каталитическую активность. В процессе оценки возможностей капиллярного зонного электрофореза применительно к исследованию соединений данного класса на примере комплексных фосфованадомолибдатов нами также были изучены реальные смеси, образующиеся при синтезе смешанных ПОМ и ГПС на основе тантала, ниобия и рутения и др. Эти исследования позволили скорректировать методики синтеза, а также в ряде случаев охарактеризовать особенности и свойства полиоксометаллатов.

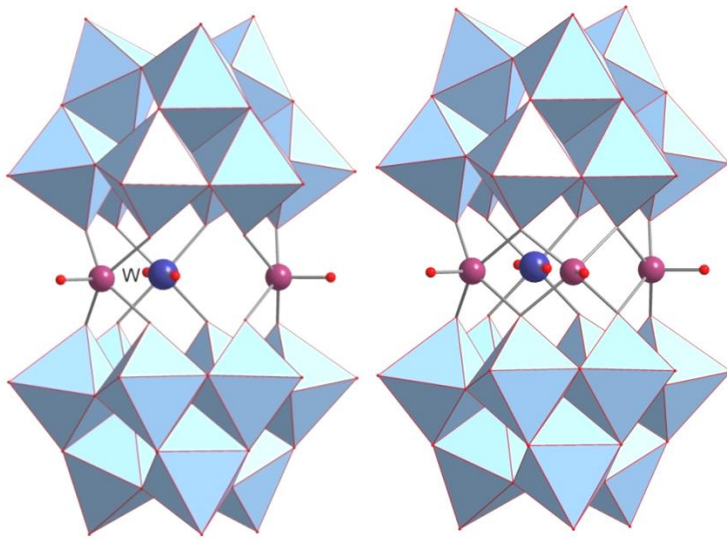
Кроме уже упомянутых выше полиоксометаллатов были изучены следующие соединения:

- смешанные ПОМ состава  $[(SeM_9O_{33})_2(MO_x(H_2O)_y)_3]^{n-}$ ,  $M=W/V(IV,V)$ ;
- ГПС на основе Nb;
- ПОМ на основе Ta/Ru;
- комплексы Кеплера ( $M_{132}$ ) с различными мостиковыми фрагментами.

### **4.1. Смешанные ПОМ состава $[(SeM_9O_{33})_2(MO_x(H_2O)_y)_3]^{n-}$ , где $M=W/V(IV,V)$**

Как и многие прочие полиоксометаллаты, ГПС указанного состава интересны как катализаторы окисления различных органических субстратов, в том числе и алканов, по этой причине развитие новых подходов для характеристики соединений данного типа представляется весьма своевременным.

Структуры подобных комплексов представляют собой две расположенные друг напротив друга «шапки»  $\{SeM_9O_{33}\}$ , между которыми находится плоская «прослойка», содержащая три атома металла  $\{(MO_x(H_2O)_y)_3\}$  (рис. 17). Эти ПОМ представляют собой смешанные соединения, в состав которых в качестве металлов могут быть включены вольфрам и ванадий, причем в различных степенях окисления (V или IV). Согласно [295] в комплексе с V(VI) атомы ванадия могут быть распределены только между тремя позициями в «прослойке».



**Рис. 17.** Структуры комплексов состава  $[(\text{Se}^{\text{IV}}\text{W}^{\text{VI}}_x\text{V}^{\text{V}}_{9-x}\text{O}_{33})_2(\text{W}^{\text{VI}}\text{O}(\text{H}_2\text{O}))(\text{VO})_m]^{n-}$ , где  $m=2$  (слева) и 3 (справа)

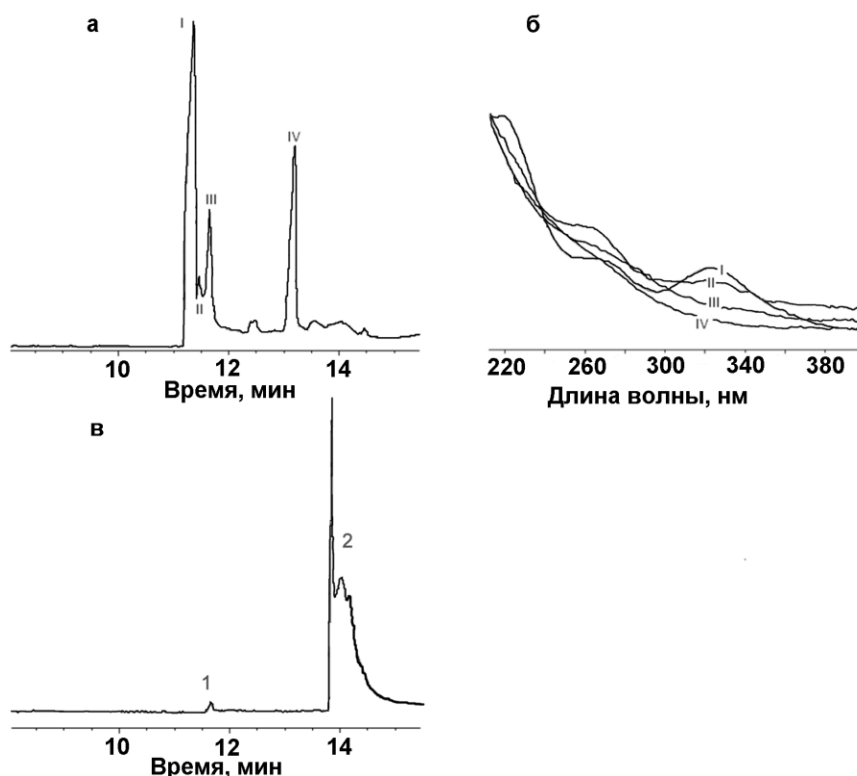
В комплексе с V(V) ванадий и вольфрам распределены между всеми позициями металла в структуре. В растворе возможно существование ряда комплексов различного состава [295]:

- V(IV)  $[(\text{SeW}_9\text{O}_{33})_2((\text{VO})_2\text{WO}(\text{H}_2\text{O}))]^{n-}$   
 $[(\text{SeW}_9\text{O}_{33})_2(\text{VO}(\text{WO}(\text{H}_2\text{O}))_2)]^{m-}$   
 $[(\text{SeW}_9\text{O}_{33})_2(\text{WO}(\text{H}_2\text{O}))_3]^{l-}$
- V(V)  $[(\text{SeM}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO}_x(\text{H}_2\text{O})_y)_3]^{n-} \leftrightarrow [(\text{SeM}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO}_x(\text{H}_2\text{O})_y)_4]^{m-}$

Как известно, сепарационные методы анализа, в т.ч. КЗЭ, могут применяться не только для изучения состава сложных смесей, но и для изучения трансформации компонентов в растворе, причем как на качественном, так и на количественном уровне.

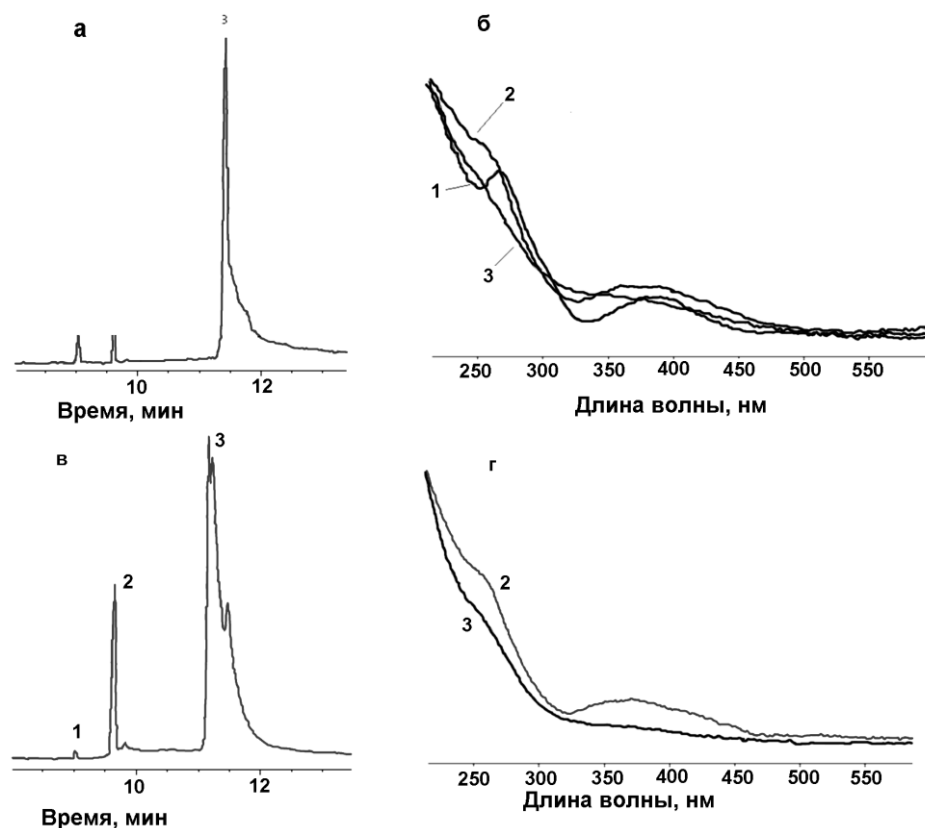
На рис. 18, В представлена электрофореграмма раствора, содержащего  $[(\text{SeM}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO}_x(\text{H}_2\text{O})_y)_3]^{n-}$ , для синтеза которого применяли V(V). В принципе, не исключено, что в процессе синтеза могут образоваться различные формы вольфрамат-иона (рис. 18, А). Однако для комплекса  $[(\text{SeM}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO}_x(\text{H}_2\text{O})_y)_3]^{n-}$ , где  $\text{M}=\text{V}(\text{V})$ , характерно наличие полосы поглощения в области ~400 нм, в то время как различные формы вольфрамов характеризуются максимумами поглощения при длинах волн ~270 нм и ~320 нм (рис. 18, Б). Кроме того, видно, что при выбранных условиях КЗЭ для комплекса (и его форм) характерны более высокие значения

электрофоретических подвижностей, чем для форм вольфрамата, присутствующих в растворе.



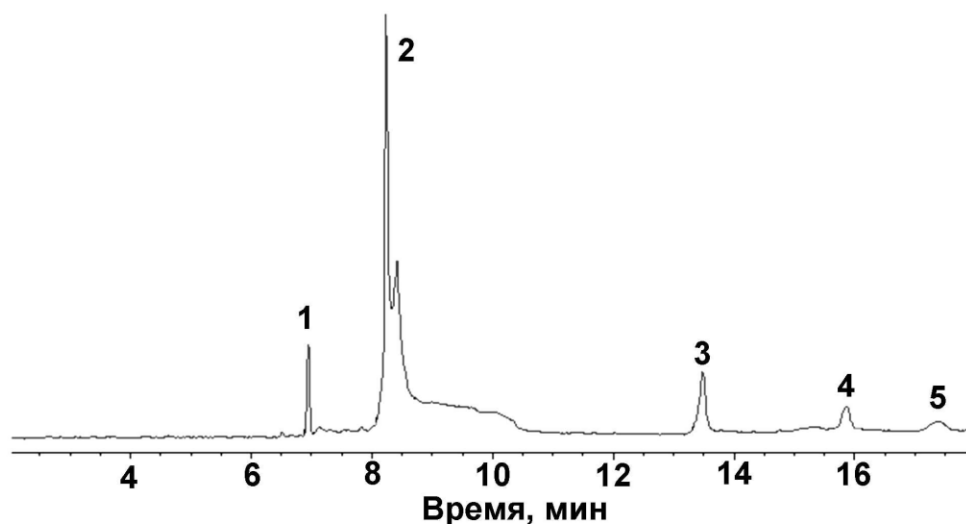
**Рис. 18.** Электрофореграмма раствора  $\text{Na}_2\text{WO}_3$  (а). I-IV – различные формы вольфрамата. УФ-спектры форм I-IV, записанные в *on-line* режиме (б). Электрофореграмма свежего раствора исследуемого комплекса (410 нм) (в). 1 – не идентифицированный компонент, 2 – различные формы комплекса  $[(\text{SeM}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO}_x(\text{H}_2\text{O})_y)_3]^{n-}$  (V(V)). Условия: кварцевый капилляр ( $L_{\text{эфф}} = 52$  см), малоновый электролит (0,1М, рН=2,8),  $U = -15$  кВ,  $\lambda = 250$  нм, пневматический ввод (30 мбар·10 с)

Можно предположить, что основные компоненты раствора представлены группой 1, состоящей из неразделенных пиков, которая, вероятно, относится к трем комплексам  $[(\text{SeM}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO}_x(\text{H}_2\text{O})_y)_3]^{n-}$  ( $M = \text{V(V)}$ ), содержащим различное количество атомов ванадия, и их изомерам. Минорный пик 1, скорее всего, соответствует какому-либо продукту трансформации или распада исследуемого комплекса. Аргументом в пользу данного предположения является изменение электрофореграммы исследуемой смеси во времени: через 7 дней (рис. 19, А)  $[(\text{SeM}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO}_x(\text{H}_2\text{O})_y)_3]^{n-}$  ( $M = \text{V(V)}$ ) и через 30 дней (рис. 19, В) хранения при комнатной температуре на воздухе. На рис. 19, Б и Г приведены УФ-спектры поглощения, записанные в *on-line* режиме для пиков компонентов. Видно, что некоторые компоненты обладают локальными максимумами поглощения на длинах волн около 400 нм, что подтверждает наличие форм  $[(\text{SeM}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO}_x(\text{H}_2\text{O})_y)_3]^{n-}$ .



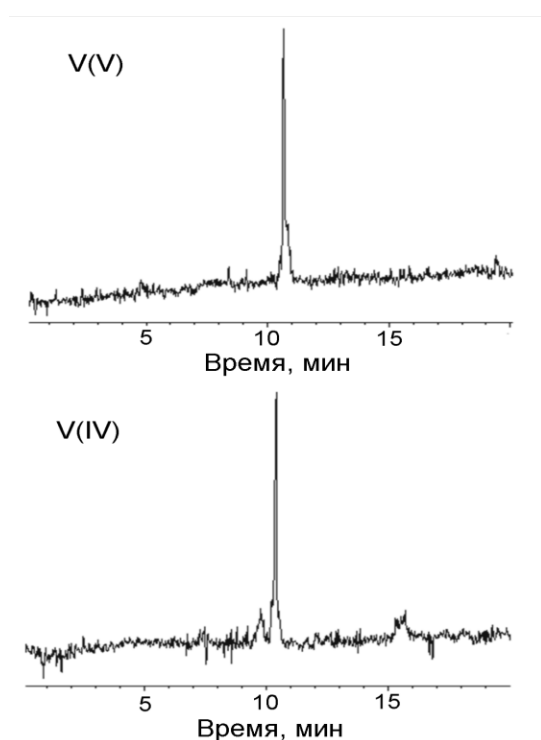
**Рис. 19.** Электрофореграммы раствора комплекса  $[(\text{SeM}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO}_x(\text{H}_2\text{O})_y)_3]^{n-}$  (V (V)) через 7 (а) и 30 (б) дней хранения при комнатной температуре на воздухе. УФ-спектры поглощения для пиков компонентов раствора спустя 7 дней (б) и 30 дней (г), полученные в *on-line* режиме. 1, 2 – различные ионы  $[\text{M}_6\text{O}_{19}]^{m-}$ , 3 – различные формы  $[(\text{SeM}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO}_x(\text{H}_2\text{O})_y)_3]^{n-}$ . Условия: кварцевый капилляр ( $L_{\text{эфф}} = 44$  см), малоновый электролит (0,1М, pH=2,8),  $U = -15$  кВ,  $\lambda = 250$  нм, пневматический ввод (30 мбар·10 с)

Можно предположить, что пики 1 и 2 соответствуют различным фрагментам  $[\text{M}_6\text{O}_{19}]^{m-}$ , которые являются вероятными продуктами распада комплекса. Спустя несколько месяцев (рис. 20) пик комплекса исчезает, при этом появляются новые сигналы, соответствующие, вероятнее всего, прочим продуктам деструкции, для которых поглощение области 400 нм отсутствовало.



**Рис. 20.** Электрофореграмма раствора  $[(\text{SeM}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO})_3]^{n-}$  (V(V)) спустя несколько месяцев хранения. 2 – предположительно анион типа Лингквиста  $[\text{M}_6\text{O}_{19}]^{n-}$ , 1, 3–5 – продукты деструкции неустановленного состава (поглощения на 400 нм нет) Условия: кварцевый капилляр ( $L_{\text{эфф}}=44$  см), малоновый электролит (0,1М, pH=2,8),  $U = -15$  кВ,  $\lambda=254$  нм, пневматический ввод (30мбар\*10с)

При исследовании комплекса  $[(\text{SeW}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO}_x(\text{H}_2\text{O})_y)_3]^{n-}$  ( $M=W$ , V(IV)) на электрофореграмме регистрировали группу пиков, отвечающих основным компонентам (вероятнее всего, комплексам  $[(\text{SeW}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO}_x(\text{H}_2\text{O})_y)_3]^{n-}$  и их различным формам), а также пики неизвестных компонентов, скорее всего, продуктов деструкции. При этом в свежеприготовленных растворах на длине волны 410 нм не наблюдалось каких-либо сигналов, кроме пиков основных компонентов (рис. 21).

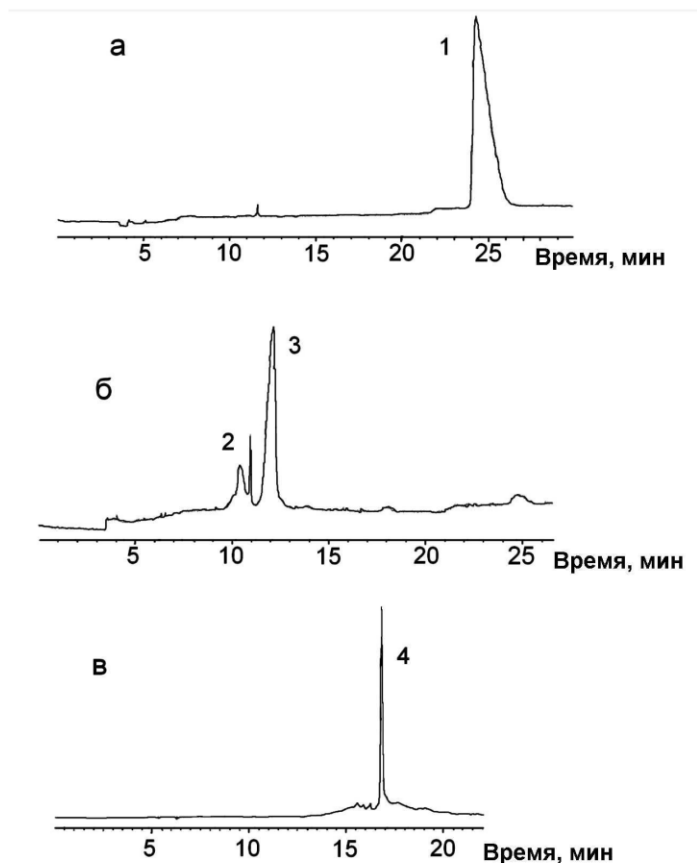
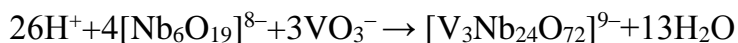


**Рис. 21.** Электрофореграммы растворов комплексов  $[(\text{SeM}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO}_x(\text{H}_2\text{O})_y)_3]^{n-}$  (V (V)) и  $[(\text{SeW}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO}_x(\text{H}_2\text{O})_y)_3]^{n-}$  ( $M=W$ , V (IV)). Условия: кварцевый капилляр ( $L_{\text{эфф}}=44$  см), малоновый электролит (0,1М, pH=2,8),  $U = -18$  кВ,  $\lambda=410$  нм, пневматический ввод пробы (30мбар\*10с).



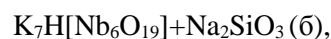
## 4.2. ГПС на основе Nb

ПОМ на основе ниобия на данный момент представляют собой одно из наиболее перспективных направлений в химии полиоксометаллатов. Для иллюстрации возможностей КЗЭ применительно к различным группам ПОМ были исследованы ГПС на основе ниобия, синтезируемые согласно схемам:



**Рис. 22.** Электрофореграммы растворов ГПС на основе ниобия.

Электрофореграмма раствора  $\text{K}_7\text{H}[\text{Nb}_6\text{O}_{19}]$  (а), электрофореграмма раствора продуктов, выделенного из реакционной смеси



электрофореграмма раствора продукта, выделенного из реакционной смеси

$\text{K}_7\text{H}[\text{Nb}_6\text{O}_{19}] + \text{NaVO}_3$  (в). 1 – исходный комплекс  $\text{K}_7\text{H}[\text{Nb}_6\text{O}_{19}]$ , 2 – комплекс  $[\text{SiNb}_{12}\text{O}_{40}]^{16-}$ , 3 – комплекс  $[\text{H}_2\text{Si}_4\text{Nb}_{16}\text{O}_{56}]^{14-}$ , 4 – комплекс  $[\text{V}_3\text{Nb}_{24}\text{O}_{72}]^{9-}$ .

Условия: кварцевый капилляр ( $L_{\text{эфф}}=44$  см), электролит на основе борной кислоты ( $\text{pH}=9,18$ ),  $0,01\text{M}$ .  $U=12$  кВ,  $\lambda=230$  нм, ввод пробы: пневматический (50 мбар·20 с).

На рис. 22 представлены электрофореграммы растворов, содержащих продукты синтеза комплексов, содержащих ниобий. Видно, что исходный компонент  $\text{K}_7\text{H}[\text{Nb}_6\text{O}_{19}]$  (рис. 22, а) обладает значительно меньшей подвижностью и отсутствует в растворе выделенных продуктов реакции. Группа неразделенных пиков 1 на рис. 22, б, вероятнее всего, соответствует комплексу  $[\text{SiNb}_{12}\text{O}_{40}]^{16-}$  со структурой Кеггина и лакунарному комплексу, который может являться промежуточным или побочным продуктом реакции. На рис. 22, в, который соответствует раствору  $[\text{V}_3\text{Nb}_{24}\text{O}_{72}]^{9-}$ , регистрируется единственный пик 4 доминирующего продукта с меньшей подвижностью по сравнению с кремнийсодержащими комплексами. Интересно отметить, что в ходе данной реакции формируется только один основной продукт.

### 4.3. Смешанные ПОМ на основе Ta и Ru

Капиллярный электрофорез в принципе является подходящим инструментом для изучения комплексов, имеющих разнообразную природу, в том числе и содержащих металлорганические фрагменты в структуре. Электрофоретическому разделению были подвергнуты комплексы, синтезируемые по схеме (рис. 23):

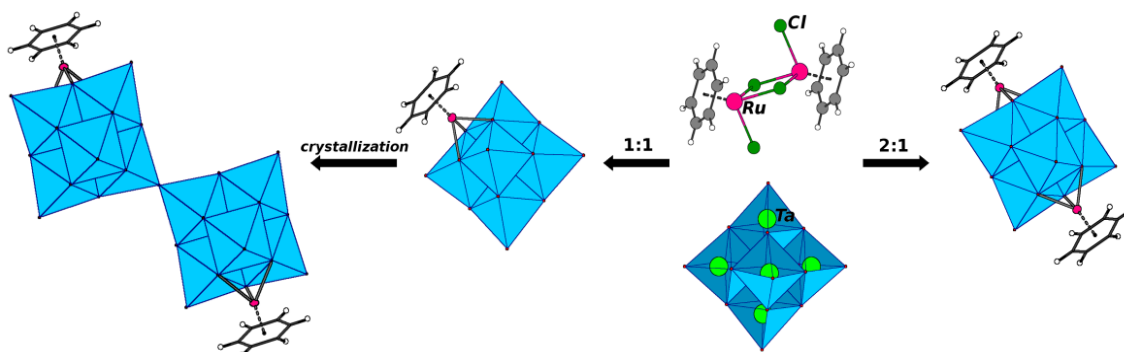
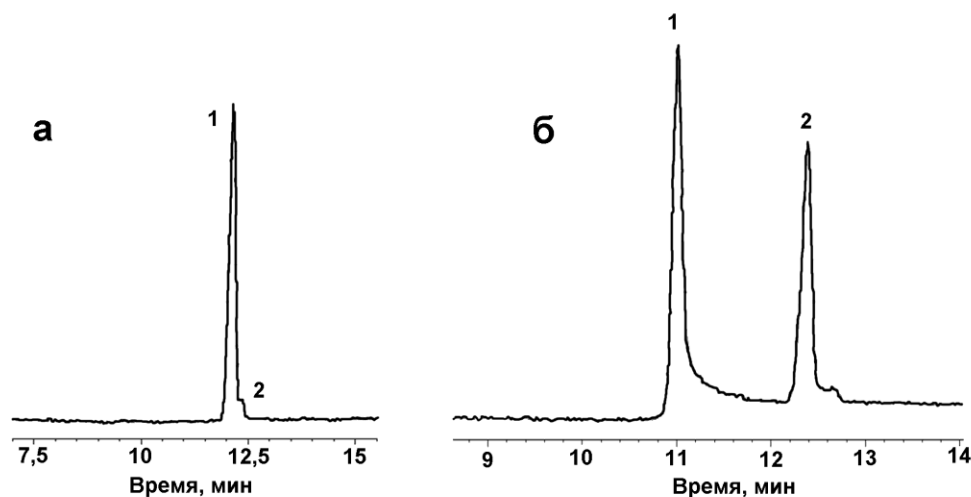


Рис. 23.

Схема синтеза комплексов  $[ \{ (\text{arene})\text{Ru} \}_x \text{Ta}_6\text{O}_{19} ]^{n-}$  [296]

В зависимости от соотношения исходных компонентов может образовываться либо комплекс, содержащий два рутений-органических фрагмента в структуре, либо комплекс, содержащий один рутений-органический фрагмент (атом рутения с координированным ареновым фрагментом  $\{(\text{arene})\text{Ru}\}$ ), который при кристаллизации может подвергаться димеризации. На рис. 24 приведены электрофореграммы растворов, содержащих выделенные продукты синтеза с соотношениями исходных компонентов 1:1 и 1:2. Идентификация пиков проводилась при сопоставлении данных КЗЭ с данными <sup>13</sup>C-ЯМР и масс-спектрометрических исследований [296].

КЗЭ может являться подходящим инструментом для изучения ПОМ на основе тантала, в том числе и содержащих металлорганический фрагмент в своей структуре. Изученные в рамках настоящей работы тантал-рутениевые комплексы могут найти применение в качестве катализаторов рацемизации спиртов [296].

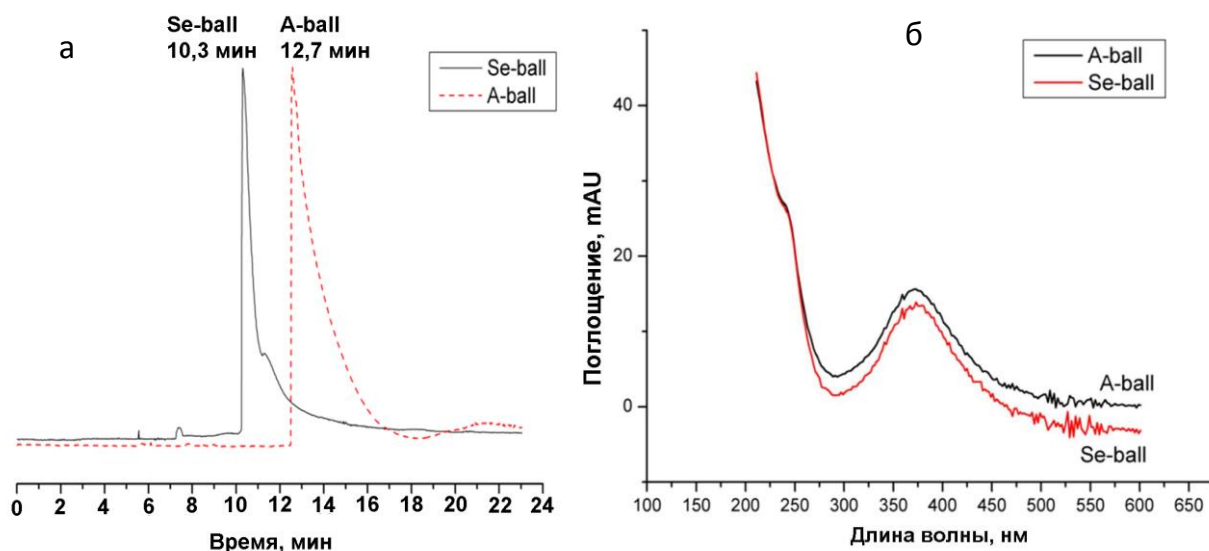


**Рис. 24.** Электрофореграммы раствора продуктов, образующихся в ходе синтеза комплексов  $[\{(arene)Ru\}_xTa_6O_{19}]^{n-}$   $[\{(arene)Ru\}_2Ta_6O_{19}]^{4-}$  (а), 1 – пик основного продукта ( $[\{(arene)Ru\}_2Ta_6O_{19}]^{4-}$ ), 2 – предположительно, пик одной из изомерных форм комплекса; и  $[\{(arene)Ru\}Ta_6O_{19}]^{6-}$  (б), 1 – пик основного продукта  $[\{(arene)Ru\}Ta_6O_{19}]^{6-}$ , 2 – пик побочного продукта (комплекса  $[\{(arene)Ru\}Ta_6O_{19}]^{6-}$ ). Условия: кварцевый капилляр ( $L_{эфф}=75$  см); электролит пробы  $7,5 \cdot 10^{-3}$ М боратный буфер (рН 9,18); разделительный электролит  $7,5 \cdot 10^{-2}$ М боратный электролит (рН 9,18); гидродинамический ввод 300 мбар·с;  $U=-30$  кВ;  $\lambda=254$  нм

#### 4.4. Разделение комплексных анионов со структурой типа Кеплера

Известно, что оксоанионы металлов могут образовывать в растворе супрамолекулярные ансамбли, содержащие несколько десятков и сотен атомов металла. Такие частицы могут иметь различное строение, в том числе и сферическую структуру типа Кеплера. Представлялось целесообразным оценить возможности КЗЭ для изучения подобных соединений. На рис. 25, а приведены электрофореграммы комплексов состава  $[\{W_6O_{21}(H_2O)_6\}_{12}\{Mo_2O_4(SeO_4)\}_{30}]^{72-}$  (Se-ball) и  $[\{W_6O_{21}(H_2O)_5(CH_3COO)_{0.5}\}_{12}\{Mo_2O_4(CH_3COO)\}_{30}]^{48-}$  (A-ball), представляющих собой сферические частицы, оксометаллический каркас которых содержит 12 пентагональных фрагментов  $\{Mo(Mo_5)\}$  или  $\{W(W_5)\}$ , связанных между собой 30 мостиковыми фрагментами  $\{Mo_2O_4\}^{2+}$ . Видно, что пики комплексов обоого типа характеризуются затянутым задним фронтом, что можно объяснить их взаимодействием с силанольными группами кварцевого капилляра, хотя не исключено и присутствие в смеси большого числа химических форм комплексов.

Хотя разделение этих соединений осуществляется не до базовой линии, тем не менее, для них достигается разрешение на уровне  $R_s=0,7$ . Есть основания полагать, что при использовании модифицированных капилляров или других способов снижения адсорбции на внутренней поверхности капилляра можно повысить эффективность разделения комплексных анионов данного типа, путем снижения степени уширения пиков, и, следовательно, более полного разделения.



**Рис. 25.** Электрофореграммы раствора кеплератов (Se-ball и A-ball)(а), спектры УФ-поглощения Se-ball и A-ball (б). Условия: кварцевый капилляр ( $L_{эфф}=75$  см); малоновый электролит (0,1М, pH 2,8); гидродинамический ввод 500 мбар·с;  $U=15$  кВ;  $\lambda=250$  нм.

## **ГЛАВА 5. Изучение состава смеси продуктов синтеза ПОМ при проведении реакции непосредственно в разделительном капилляре (режим *in-capillary*)**

Исследование смеси продуктов синтеза ПОМ методом КЗЭ позволяет получить информацию о составе и состоянии комплексных соединений в растворе. Тем не менее, судить о механизме процесса и об образовании промежуточных продуктов синтеза при введении в капилляр реакционной смеси не представляется возможным, т.к. информация о начальном этапе процесса синтеза при этом теряется. Есть основания полагать, что для этой цели может быть применен подход, основанный на проведении реакции непосредственно внутри разделительного капилляра системы КЭ (режим *in-capillary*). Применение данного подхода на практике к сложным системам, таким, как, например, синтез ПОМ, требует предварительной оптимизации процедуры.

Оценку возможностей применения подхода *in-capillary* для изучения процесса образования ПОМ проводили на примере реакций синтеза фосфомолибдат-аниона  $[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$  и более сложного ванадийсодержащего комплекса  $[\text{PVMo}_{11}\text{O}_{40}]^{4-}$ . Для этого сопоставляли результаты, полученные в двух различных режимах: *in-capillary*, при котором синтез ПОМ осуществляли непосредственно в капилляре, как в реакторе, и *pre-capillary*, при котором в капилляр вводили реакционную смесь, содержащую исходные реагенты и продукты синтеза.

С целью отработки методических приемов для реализации режима *in-capillary* на начальном этапе эксперимента была исследована модельная реакция образования комплекса меди с анионом этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА). В качестве раствора комплексообразователя использовали раствор натриевой соли ЭДТА (Трилон Б).

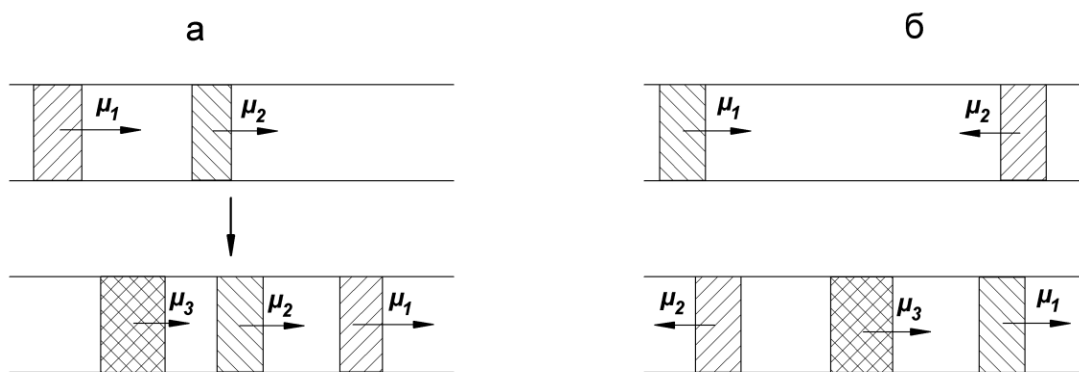
В принципе, реакцию в капилляре можно проводить как путем ввода реагентов с двух концов капилляра, так и путем последовательного ввода с одного конца. Ввиду конструктивных ограничений имеющейся в нашем распоряжении системы капиллярного электрофореза (возможность ввода пробы только на входе в капилляр) использовали вариант последовательного ввода реагентов в капилляр. При последовательном вводе реагентов в зависимости от направления миграции компонентов системы возможны два пути протекания процесса:

– зоны реагентов мигрируют противонаправленно, и их взаимодействие происходит в момент пересечения.

– зоны реагентов перемещаются сонаправленно и встречаются тогда, когда одна из зон «догонит» другую в процессе электрофоретической миграции;

В первом случае компоненты имеют противоположенные направления перемещения вдоль капилляра и движутся в процессе электрофоретической миграции навстречу друг другу. Во втором варианте происходит миграция компонентов в капилляре в одном направлении. Для того чтобы зоны реагентов пересеклись, необходимо, чтобы более медленный компонент вводился в капилляр первым, после чего осуществлялся ввод реагента с большим значением электрофоретической подвижности, поэтому предварительно требуется оценить скорости миграции каждого из реагентов. В зависимости от соотношения подвижностей  $\mu_1$  (подвижность реагента, вводимого первым) и  $\mu_2$  (подвижность реагента, вводимого следом) и условий разделения (напряжение, состав разделительного электролита, длина зоны разделительного электролита между реагентами), скорости движения зон будут различаться. Если  $\mu_2 > \mu_1 > 0$ , то при достаточной длине капилляра и разнице в скоростях миграции зона реагента с  $\mu_2$  в определенный момент времени пересечется с зоной реагента с  $\mu_1$ , и произойдет реакция. Если  $\mu_2 > 0$ ,  $\mu_1 < 0$ , то есть первый реагент движется по направлению от детектора, а второй – к детектору, то пересечение зон произойдет в любом случае, при этом зона продукта реакции с электрофоретической подвижностью  $\mu_3$  будет мигрировать со своей собственной скоростью. В зависимости от направления движения продукта реакции важно правильно выбрать полярность приложенного напряжения, так, чтобы продукт реакции мигрировал к детектору.

На рис. 26 приведено схематическое изображение двух описанных выше вариантов.



**Рис. 26.** Схема протекания реакции при раздельном вводе реагентов: сонаправленная миграция реагентов ( $\mu_1 > \mu_2$ ) (а), противонаправленная миграция реагентов (б).  $\mu_1$ ,  $\mu_2$ ,  $\mu_3$  – электрофоретические подвижности реагентов и продукта реакции соответственно

### 5.1. Образование комплекса Си-ЭДТА в режиме *in-capillary*

Модельную реакцию синтеза комплекса  $\text{Cu}(\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8)^{2-}$  внутри капилляра проводили при последовательном вводе раствора трилона Б ( $\text{Y}^{4-}$ ), зоны разделительного электролита и раствора  $\text{Cu}^{2+}$  в виде сульфата.

Схема ввода реагентов для проведения реакции в режиме *in-capillary* приведена на рис. 27.

При реализации данной схемы существует ряд экспериментальных параметров, которые можно варьировать, а именно:

- напряжение, при котором происходит миграция исходных реагентов, их взаимодействие, а также разделение продукта(ов) реакции и исходных веществ

- время реакции, то есть продолжительность контакта зон реагентов, которое в свою очередь определяется напряжением или временем контакта без наложения электрического поля;

- соотношение количеств реагентов, которое может варьироваться либо путем изменения времени ввода зоны того или иного реагента, либо путем изменения их концентраций.

Помимо указанных параметров, современное оборудование позволяет менять полярность в ходе разделения, изменяя таким образом направление миграции компонентов, вводить замыкающую пробку разделительного электролита для того, чтобы препятствовать диффузии одного из компонентов в объеме разделительного электролита и т. д.

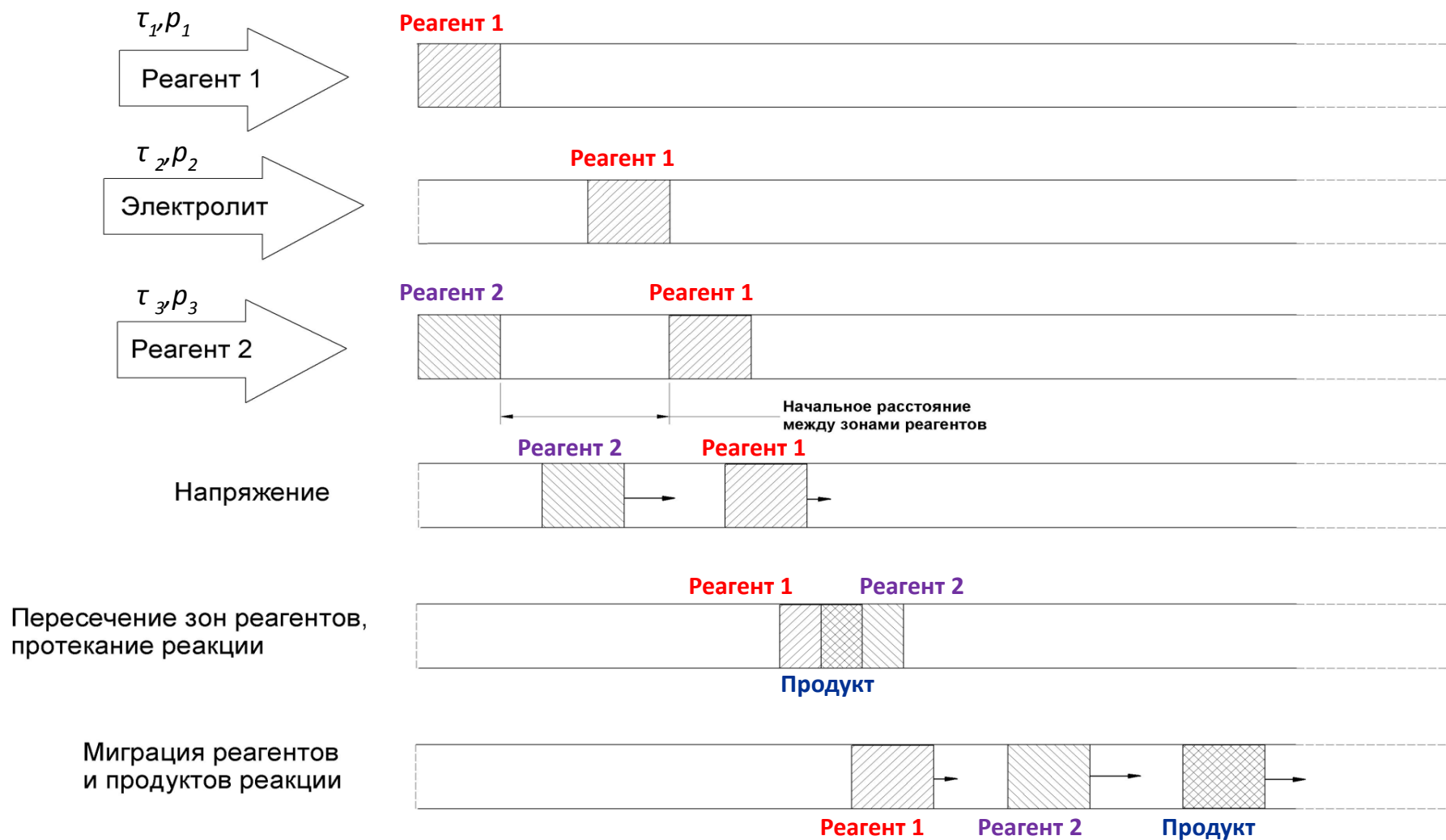


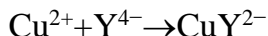
Рис. 27. Общая схема проведения реакции в режиме *in-capillary* при сонаправленном движении реагентов.

$\tau_i$  – время ввода  $i$ -ой зоны в капилляр,  $p_i$  – давление, при котором вводится  $i$ -ая зона в капилляр



При исследовании сложных смесей методами КЗЭ важным параметром, от которого зависит качество разделения аналитических сигналов компонентов, является эффективность (N). Другая характеристика, которая влияет на правильность расчета площади пика, – это симметрия пика, которая численно выражается через коэффициент симметрии (определяемый по формуле  $Ps = \frac{a}{b}$ , где  $b$  – полуширина пика на заднем фронте пика,  $a$  – полуширина пика на переднем фронте пика). Площадь пика S напрямую связана с количеством образовавшегося продукта реакции, поэтому может рассматриваться как характеристика его выхода в конкретных условиях. Изучение зависимостей этих параметров (N, Ps, S) для регистрируемых аналитических сигналов от условий проведения КЗЭ позволяет оптимизировать процесс проведения реакции внутри капилляра, при этом необходимо выявить наиболее критичные параметры, которые оказывают существенное влияние на качество разделения компонентов исследуемой смеси.

Перечисленные выше характеристики аналитического сигнала продукта для реакции образования комплекса меди и ЭДТА в соответствии с приведенным ниже уравнением оценивали в зависимости от исходного расстояния между зонами реагентов или временного промежутка между вводом зон реагентов (в том случае, если между ними не вводится зона разделительного электролита).



В табл. 14 приведена схема проведения эксперимента в режиме *in-capillary*:

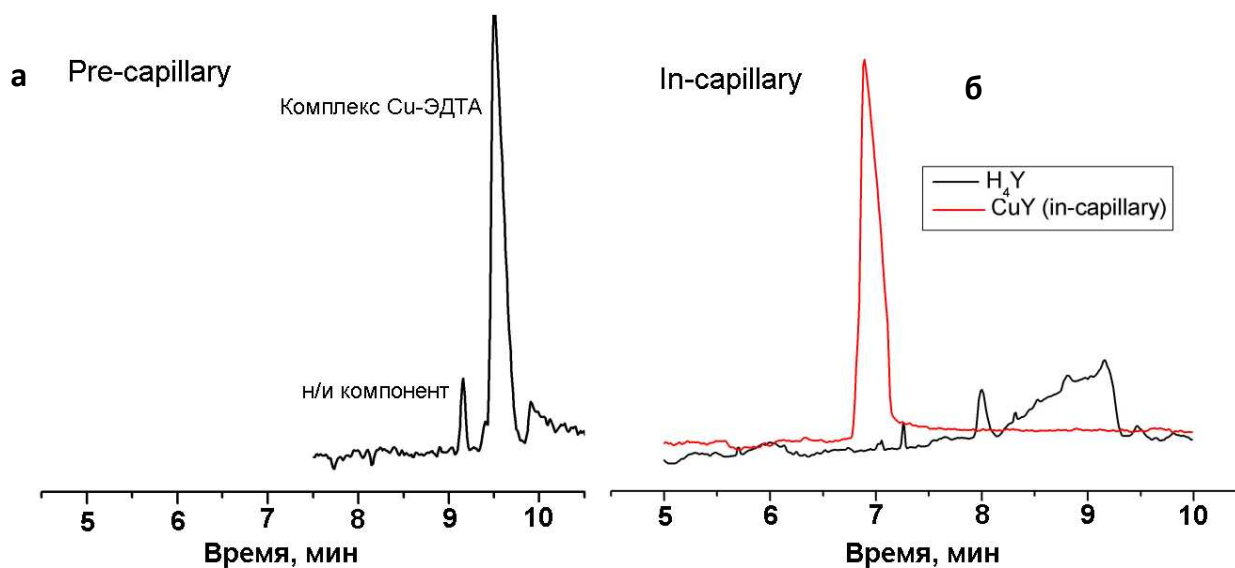
Т а б л и ц а 14

#### Схема эксперимента проведения реакции *in-capillary*

№ стадии	Действие	Вводимый реагент	Давление ввода, мбар	Продолжительность ввода, с
1	Ввод 1	Реагент 1	$p_1$	$\tau_1$
2	Ввод 2	BGE	$p_2$	$\tau_2$
3	Ввод 3	Реагент 2	$p_3$	$\tau_3$
4	Ввод 4	BGE	$p_4$	$\tau_4$
5	Ожидание, с	$\Delta t$		
6	Напряжение, кВ	$U$		

Так как стехиометрические коэффициенты в уравнении модельной реакции соотносятся как 1:1, то для проведения эксперимента использовали растворы реагентов с одинаковыми концентрациями  $10^{-3}\text{M}$ , время и давление ввода которых также были одинаковы (то есть водили одинаковые объемы растворов), тогда  $\tau_1 = \tau_3$ ,  $p_1 = p_3$ .

На рис. 28 приведены электрофореграммы, характеризующие данную реакцию при проведении в режимах *pre-* (рис. 28, а) и *in-capillary* (рис. 28, б).



**Рис. 28.** Электрофореграмма продукта реакции, проведенной *pre-capillary* (а), электрофореграмма реакции в режиме *in-capillary* (б). Условия: кварцевый капилляр ( $L_{\text{эфф}}=62$  см); боратный электролит (0,1М, рН 9,18); гидродинамический ввод 500 мбар·с;  $U=15$  кВ;  $\lambda=230$  нм

### 5.1.1. Изучение зависимости параметров аналитического сигнала от условий режима *in-capillary*

*Зависимость параметров аналитического сигнала от исходного расстояния между зонами реагентов.* На первом этапе исследования необходимо было выбрать такой порядок ввода, при котором зоны реагентов пересекались бы с формированием зоны продукта реакции, для чего порядок ввода реагентов варьировали. Оказалось, что пик продукта реакции наблюдался только в том случае, когда в качестве *реагента 1* выступал ион  $\text{Cu}^{2+}$ , а в качестве *реагента 2* – раствор ЭДТА, при этом давление ввода реагентов было одинаковым для всех компонентов (30 мбар), т.е.  $p_1=p_2=p_3=p_4=30$  мбар.

На рис. 29 приведены зависимости параметров пика продукта реакции (комплекса  $\text{CuY}^{2-}$ ) от исходного расстояния между зонами реагентов, т.е. времени ввода зоны разделительного электролита между зонами реагентов. Из полученных зависимостей следует:

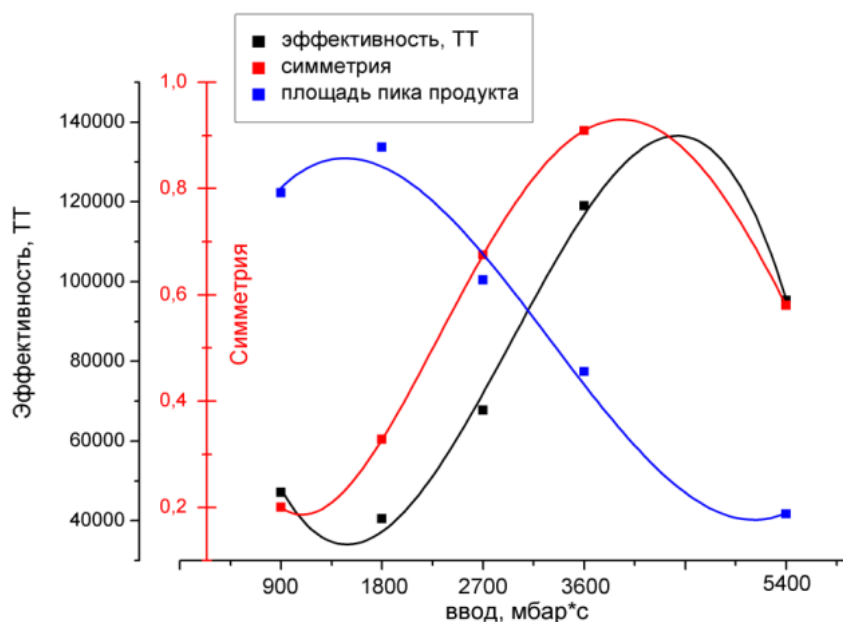
– при равных количествах вводимых реагентов исходное расстояние между зонами реагентов оказывает значительное влияние на параметры пика продукта,

такие, как эффективность, симметрия и площадь (то есть, количество образовавшегося комплекса);

– с увеличением  $\tau_2$  (т.е. исходного расстояния между зонами реагентов) эффективности и коэффициент симметрии пика продукта возрастают. Эти параметры достигают максимума при  $\tau_2=90$  с, однако дальнейшее увеличение протяженности зоны электролита между зонами реагентов приводит к уменьшению вышеупомянутых характеристик;

– площадь пика продукта реакции достигает максимума при начальном расстоянии между зонами реагентов, достигаемом при времени ввода разделительного электролита, равном  $\tau_2=30$  с. Далее, при увеличении расстояния между зонами реагентов происходит уменьшение площади пика продукта (выхода реакции).

Таким образом, можно считать, что исходное расстояние между зонами реагентов, определяемое временем ввода промежуточной зоны электролита  $\tau_2$ , является наиболее критичным параметром, от которого зависят характеристики пика продукта. В зависимости от поставленной задачи необходимо выбирать оптимально-компромиссные условия, при которых коэффициент симметрии и эффективность аналитического сигнала продукта были достаточно высоки, а его площадь не была слишком малой и характеризовалась приемлемой воспроизводимостью.



**Рис. 29.** Зависимость параметров пика продукта реакции образования CuY от исходного расстояния между зонами реагентов.

Зависимость параметров аналитического сигнала от времени контакта реагентов. Можно предположить, что при отсутствии промежуточной зоны электролита между зонами реагентов и введении в алгоритм проведения реакции некоторого промежутка времени  $\Delta t$  ( $\tau_2=0$ ), в течение которого зоны реагентов не подвергаются воздействию поля и не мигрируют, а перемешиваются благодаря диффузии, площадь пика продукта (выход реакции) будет возрастать благодаря увеличению продолжительности контакта зон. Тогда промежуток времени  $\Delta t$  можно рассматривать как время протекания реакции. Однако оказалось, что по мере возрастания времени контакта реагентов в капилляре наблюдается уменьшение площади пика продукта, при этом его эффективность практически не изменяется (рис. 30).

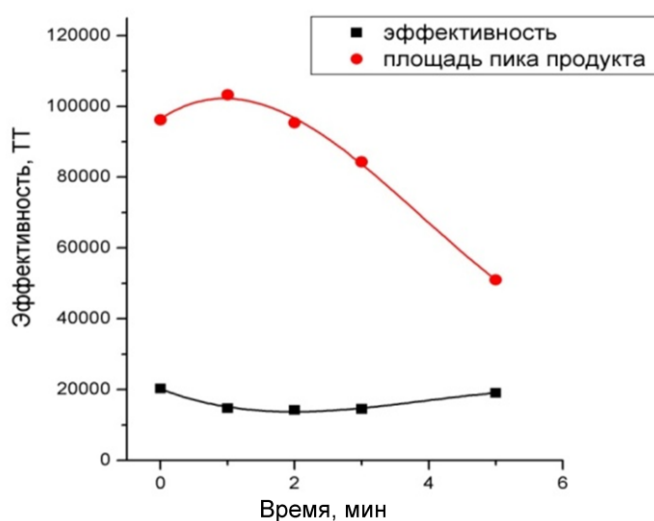


Рис. 30. Зависимость эффективности и площади пика от  $\Delta t$

На основании полученных данных в дальнейших экспериментах время контакта реагентов  $\Delta t$  было выбрано равным 0, так как при прочих равных условиях для этого временного промежутка наблюдается наибольшая площадь пика.

Таким образом, экспериментально установлено, что параметры пика продукта реакции зависят от условий КЗЭ, поэтому для проведения исследований в режиме *in-capillary* необходимо предварительно проводить процедуру оптимизации.

## 5.2. Образование комплекса $[P\text{Mo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$

Рассмотренная ранее реакция образования комплекса меди с ЭДТА была выбрана в качестве модельной для оценки принципиальной возможности применения подхода *in-capillary*. Дальнейшие исследования, связанные с изучением продуктов

синтеза ПОМ, проводили на более сложных системах, а именно, на реакциях образования молибдофосфатов, а затем – фосфомолибдованадатов. Не исключено, что закономерности протекания реакции *in-capillary* в случае исследования более сложных систем образования гетерополимолибдатов будут отличаться таковых для сравнительно простой реакции образования комплекса Cu–ЭДТА

Очевидно, что варьирование условий в режиме *in-capillary* будет оказывать влияние на протекание реакции при изменении времени контакта зон и концентраций реагентов в соответствующих зонах. Изменяя те или иные условия проведения реакции в капилляре, можно добиться не только оптимизации параметров аналитического сигнала, но и, вероятно, влиять на механизм процесса синтеза. При проведении реакции *in-capillary* существует возможность контролировать время протекания процесса и таким образом выводить те или иные промежуточные формы и побочные продукты из реакционной среды. Это становится возможным потому, что зоны реагентов и образующихся продуктов постоянно мигрируют под действием приложенного электрического поля.

С точки зрения оценки возможностей режима *in-capillary* реакции синтеза гетерополимолибдатов в качестве модельных систем представляются вполне подходящими из-за достаточно высокой скорости образования этих соединений и высоких коэффициентов молярного поглощения, что упрощает регистрацию аналитических сигналов.

Перед тем, как перейти к изучению процесса синтеза более сложных ПОМ, для которых возможно образование нескольких продуктов, нами была рассмотрена реакция образования фосфомолибдат-аниона  $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ . Реакцию образования ПОМ проводили по методике [104]. Выбор условий проведения эксперимента осуществляли на основании данных, полученных методом КЗЭ в режиме *pre-capillary* (раздел 3.1). В качестве разделительного электролита использовали раствор МХА (0,1М, рН=2,7), для которого были достигнуты наилучшие характеристики для пика продукта реакции – комплекса  $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ . В табл. 15 представлены условия проведения реакции *in-capillary* при отдельном вводе реагентов и разделительного электролита.

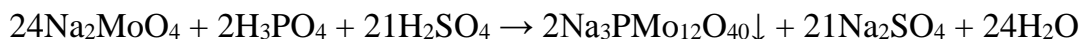
Т а б л и ц а 15

**Условия отдельного ввода реагентов в капилляр**

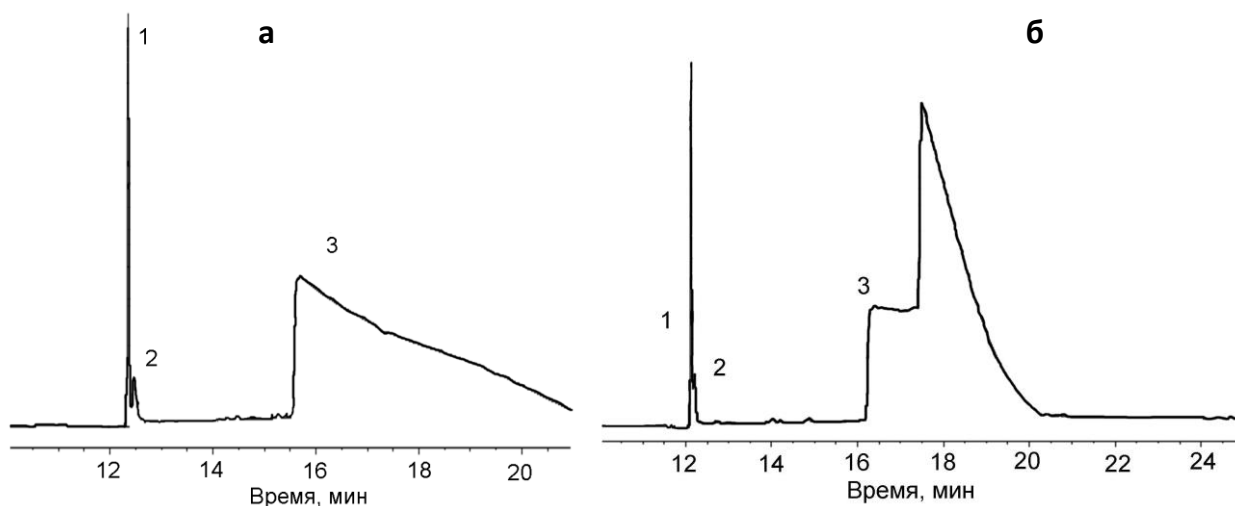
Порядок ввода	Вводимый раствор	Параметры ввода, мбар·с			
1	Фосфат-ион, $5,3 \cdot 10^{-4}M$	300	300	300	300
2	Разделительный электролит	900	1800	2700	4500
3	Молибдат-ион, $10^{-3}M$	500	500	500	500

### 5.2.1. Образование комплекса $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ в режиме *in-capillary*

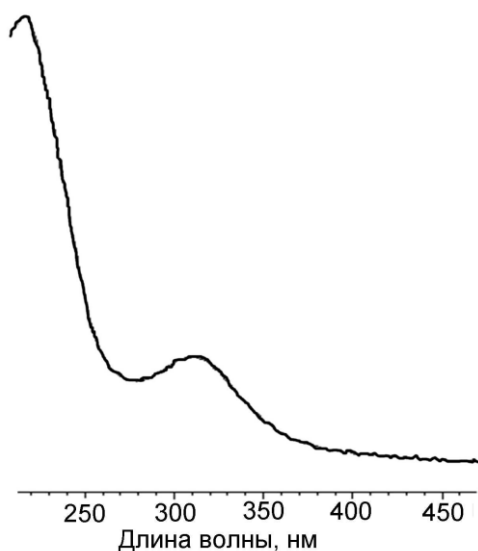
Из литературы известно, что электрофоретическая подвижность молибдат-иона ( $-74,0 \cdot 10^{-9}$  м<sup>2</sup>/В·с для бесконечно разбавленного раствора [297]) по абсолютной величине выше, чем дигидрофосфат-иона ( $-55,0 \cdot 10^{-9}$  м<sup>2</sup>/В·с для фосфат-иона в щелочной среде [297]). По этой причине (см. раздел 5.2) в капилляр последовательно вводили сначала дигидрофосфат-ион, затем зону разделительного электролита различной протяженности за счет варьирования времени приложения давления, и, наконец, молибдат-ион. При таком порядке ввода реагентов зоны компонентов пересекались с образованием фосфомолибдат-аниона по реакции:



Для сравнения разделению методом КЗЭ также подвергали предварительно синтезированный комплекс, (режим *pre-capillary*). На рис. 31 приведены электрофореграммы, полученные при исследовании продуктов реакции, проведенной в режиме *pre-capillary* (рис. 31, а) и *in-capillary* (рис. 31, б).



**Рис. 31.** Электрофореграммы реакционной смеси при взаимодействии молибдат- и дигидрофосфат-ионов в режимах *pre-capillary* (а) и *in-capillary* (б). 1–  $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ , 2 – неизвестная примесь, 3 – молибдат-ион. Условия разделения: 0,1М малоновый электролит (рН=2,8), буфер пробы -0,01М малоновый электролит (рН=3,0), напряжение -17 кВ,  $\lambda=230$  нм. Условия ввода: (а)30 мбар·30 с, (б) 0,01М  $H_2PO_4$  30 мбар·5 с, затем разделительный электролит 30 мбар·30с, затем 0,01М  $MoO_4^{2-}$  30 мбар·55 с



**Рис. 32.** Спектр поглощения соединения, соответствующего пику №1 рис. 31

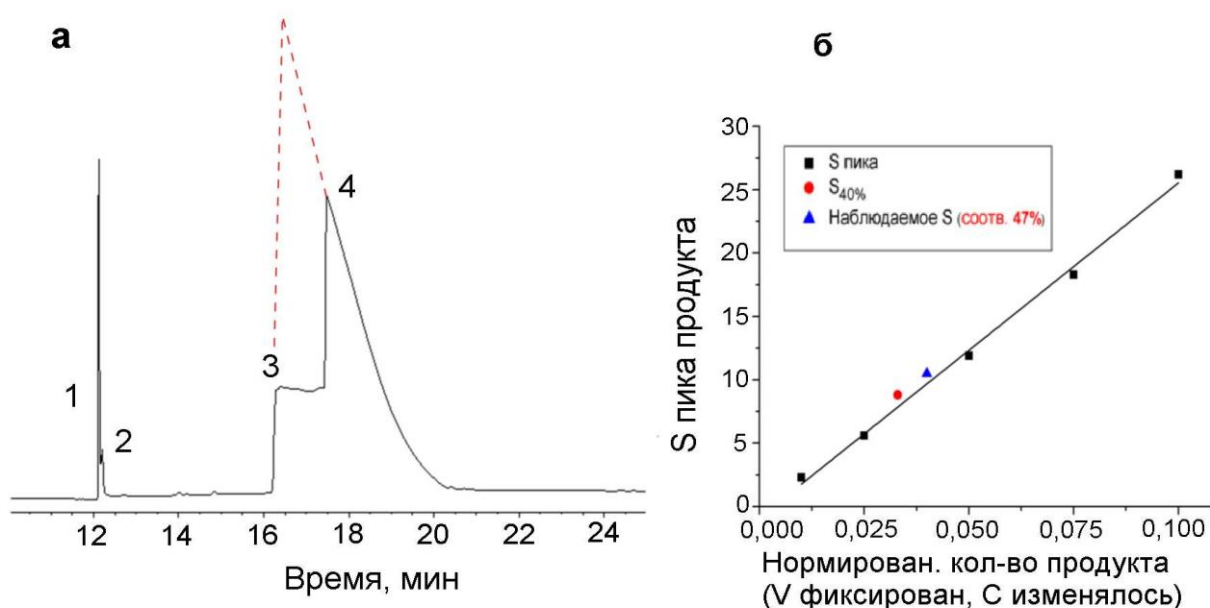
Спектр поглощения комплекса (рис. 32), характеризующий пик 1, в вариантах *pre-* и *in-capillary* идентичен таковому для комплекса  $[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$ , представленному в литературе [297]. В спектре молибдат-иона поглощение в данной области отсутствует.

Следует отметить, что для обоих режимов (как *pre-* так и *in-capillary*) рядом с пиком основного продукта реакции наблюдается минорный пик, который может соответствовать либо одной из форм комплекса (например, с другой степенью протонирования или структурной изомерией)

Видно, что, электрофореграммы для обоих режимов проведения реакции практически идентичны, что указывает на один и тот же путь протекания процесса образования фосфомолибдата внутри капилляра и при проведении в объеме. При этом в режиме *in-capillary* наблюдается «ступенька» на пике молибдат-аниона. При разделении продуктов реакции в режиме *pre-capillary* на форму сигнала оказывают влияние концентрации компонентов и соотношения подвижностей ионов. При проведении реакции внутри капилляра на формирование пика, в отличие от режима *pre-capillary*, оказывают влияние все процессы, происходящие внутри капилляра. Поэтому наличие «ступеньки» можно объяснить тем, что при смешивании зон реагентов в ходе миграции часть  $\text{MoO}_4^{2-}$  расходуется на образование продукта, что приводит к локальному уменьшению концентрации молибдата в мигрирующей зоне и изменению его концентрационного профиля. При сравнении площадей пиков, один из которых соответствует заданному количеству молибдата, а другой формируется в процессе проведения реакции с таким же его количеством, можно оценить величину

площади, соответствующей «ступеньке», а значит, и количество вещества, вступившего в реакцию. Сопоставляя количества израсходованного молибдат-аниона и образовавшегося целевого продукта, которое может быть вычислено исходя из площади пика продукта по градуировочному графику, в принципе, можно констатировать протекание тех или иных побочных процессов с участием молибдат-иона, даже если продукты этих предполагаемых процессов по каким-либо причинам не регистрируются на электрофореграмме.

Оказалось, что площадь наблюдаемой ступеньки составила 40% от общей площади пика, соответствующего формам молибдат-иона (рис. 33, а). Тогда можно предположить, что на образование фосфомолибдат-иона было израсходовано 40% молибдата. По градуировочному графику для молибдата было установлено, что наблюдаемая на электрофореграмме площадь пика фосфомолибдата соответствует расходу 47% молибдата (рис. 33, б), что демонстрирует вполне удовлетворительное совпадение с учетом всех погрешностей измерения для КЗЭ (порядка 15%).



**Рис. 33.** Электрофореграмма реакции образования фосфомолибдат-иона в режиме *in-capillary* (а). 1, 2 – продукты реакции, 4 – формы молибдат-иона, 3 – «ступенька» на пике молибдата, и зависимость площади пика  $[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$  от количества введенного комплекса (б).

В целом при сравнении электрофореграммы реакционной смеси в режиме *pre-capillary*, с таковой для *in-capillary*, значительных различий не наблюдается, за исключением появления «ступеньки» на пике молибдата. Следует также подчеркнуть, что отношение площади пика образованного комплекса  $[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$  к площади пика



молибдат-иона для реакции, проведенной в режиме *pre-capillary*, больше, чем для реакции *in-capillary*. Это можно объяснить тем, что в режиме *in-capillary* из-за ограниченного времени контакта реагентов глубина протекания реакции меньше, чем в случае КЗЭ-разделения реакционной смеси в режиме *pre-capillary*.

### 5.2.2. Оптимизация условий проведения синтеза комплекса $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$

Надежность идентификации тех или иных компонентов смеси, образующихся при синтезе ПОМ, в значительной мере зависит от формы наблюдаемых пиков. Такие параметры пика, как эффективность, симметрия и площадь, как уже было показано, находятся в зависимости от условий проведения процесса электрофоретического разделения. Поэтому оптимизация условий проведения реакции *in-capillary* является важным этапом исследования.

*Влияние напряжения на параметры аналитического сигнала в реакции синтеза  $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ .* Очевидно, что приложенное в ходе разделения напряжение влияет на скорости миграции как реагентов, так и продуктов реакции, и, соответственно, на ширину и форму аналитических сигналов. Ширина пика продукта реакции зависит от исходной протяженности зон реагентов и от степени их уширения в процессе миграции вновь сформированной зоны продукта. С другой стороны, количество образовавшегося продукта (продуктов) зависит от скорости протекания реакции, которая, в свою очередь, зависит от концентраций реагентов в соответствующих зонах. Тогда, при всех прочих равных условиях скорость реакции будет выше при пересечении узких интенсивных пиков, чем широких пиков с малой высотой. В результате, профиль пика продукта будет зависеть как от отношения скоростей миграции компонентов, так и от распределения концентраций реагентов вдоль длины капилляра.

Зависимость параметров пика продукта (эффективности, коэффициента симметрии и площади) для реакции образования  $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$  от напряжения представлена на рис. 34, а. Видно, что максимум эффективности смещен в сторону меньших значений напряжения, в то время как площадь и симметрия пика монотонно возрастают с ростом напряжения и не имеют выраженных экстремумов.

В качестве показателя, характеризующего глубину протекания реакции, можно в некотором приближении рассматривать площадь пика продукта, которая отражает количество образовавшегося в реакции нового соединения. В свою очередь, его количество зависит от количества введенных в капилляр реагентов, их концентраций и продолжительности времени контакта зон реагентов. В случае

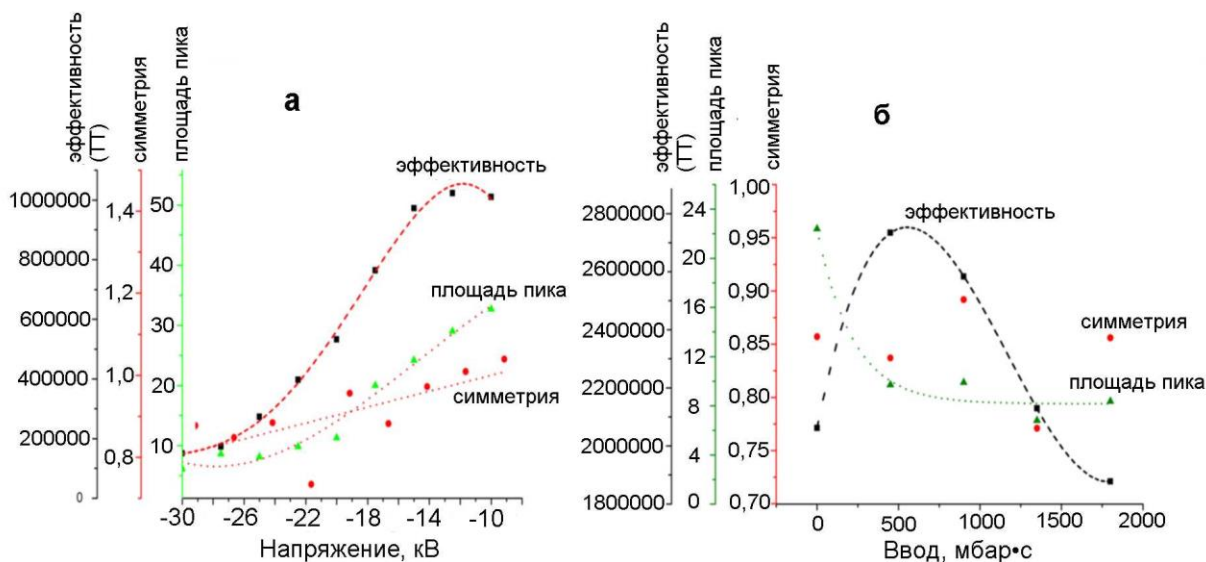
медленной миграции компонентов вдоль капилляра время контакта зон реагентов (то есть время реакции) относительно велико, но из-за уширения пика продукта в ходе миграции концентрации реагентов внутри зон относительно малы (широкие пики с низкой интенсивностью), вследствие чего снижается скорость реакции. Напротив, когда скорость миграции высока либо реализуется эффект стэкинга (формирование узкого пика на границе зон с малой и большой электропроводностью) и зоны реагентов формируют узкие интенсивные пики, скорость реакции, пропорциональная концентрациям реагентов, возрастает, хотя в этом случае время контакта зон и время реакции уменьшается.

Таким образом, количество образующегося продукта с одной стороны зависит от времени контакта зон реагентов (то есть от их ширины), а с другой - от концентрации реагентов в зонах (то есть от высоты соответствующих пиков), которые формируются в ходе миграции. Поэтому зависимость площади пика продукта от приложенного напряжения (и, соответственно, скорости миграции) может иметь сложный характер.

*Влияние ширины зоны разделительного электролита между зонами реагентов на параметры аналитического сигнала продукта реакции.* Исходное расстояние между зонами реагентов, заполненное разделительным электролитом, определяет время, в течение которого зоны реагентов мигрируют до перемешивания, и, значит, и на величину их уширения в ходе реакции. Чем больше это расстояние, тем сильнее зоны реагентов будут уширяться и искажаться в процессе миграции до перемешивания, что в конечном итоге, будет оказывать влияние на форму пика продукта. Кроме того, расстояние, которое проходит образовавшийся продукт до детектора в зависимости от исходного расстояния между зонами реагентов тем меньше, чем больше исходное расстояние между зонами (определяется временем  $\tau_2$ , табл. 14).

Экспериментальные данные, иллюстрирующие зависимость параметров аналитического сигнала продукта реакции от условий проведения КЗЭ, представлены на рис. 34. С одной стороны, при увеличении напряжения происходит возрастание эффективности, площади пика продукта и его симметрии (рис. 34, а). С другой стороны, с увеличением протяженности зоны разделительного электролита между реагентами ( $\tau_2$ ) наблюдается снижение эффективности и площади пика образующегося комплекса. Оказалось, что при времени ввода 330 с (ввод зоны 9900 мбар·с) аналитический сигнал продукта реакции отсутствует вообще. При вводе зоны разделительного электролита в течение 250 с (7500 мбар·с) и 200 с (6000 мбар·с) пик

продукта значительно уширен и не поддается корректной обработке. Уменьшение времени миграции реагентов до перемешивания приводит к снижению степени размывания пиков и меньшему градиенту концентрации реагентов внутри зон. По-видимому, по этой же причине при увеличении  $\tau_2$  площади пиков продуктов реакции также уменьшаются (рис. 34, б).



**Рис. 34.** Зависимости параметров пика продукта (эффективность, симметрия, площадь) от напряжения (а), параметров ввода зоны разделительного электролита между зонами реагентов (б)

Из полученных результатов следует:

- в принципе, метод проведения реакции *in-capillary* может быть достаточно информативным, так как позволяет получить информацию о промежуточных и побочных продуктах реакции, а также о некоторых промежуточных процессах (например, о расходе реагента при образовании «ступени» на пике молибдат-иона)

- условия, при которых достигается высокая эффективность разделения компонентов смеси и приемлемый выход реакции (исходя из площади пика продукта), соответствуют минимальному расстоянию между зонами вводимых реагентов. При небольших по модулю значениях напряжения достигается максимальная эффективность и более высокая симметрия пика и глубина протекания реакции.

По этой причине для обеспечения максимальной информативности КЗЭ в режиме *in-capillary* необходимо выбирать оптимально-компромиссные условия. Так, для реакции образования комплекса  $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$  в качестве оптимально-компромиссных были выбраны следующие условия: напряжение  $-18$  кВ и  $\tau_2 = 30$  с

(давление 30 мбар), которые были реализованы в дальнейшем исследовании процессов образования комплексов в режиме *in-capillary*.

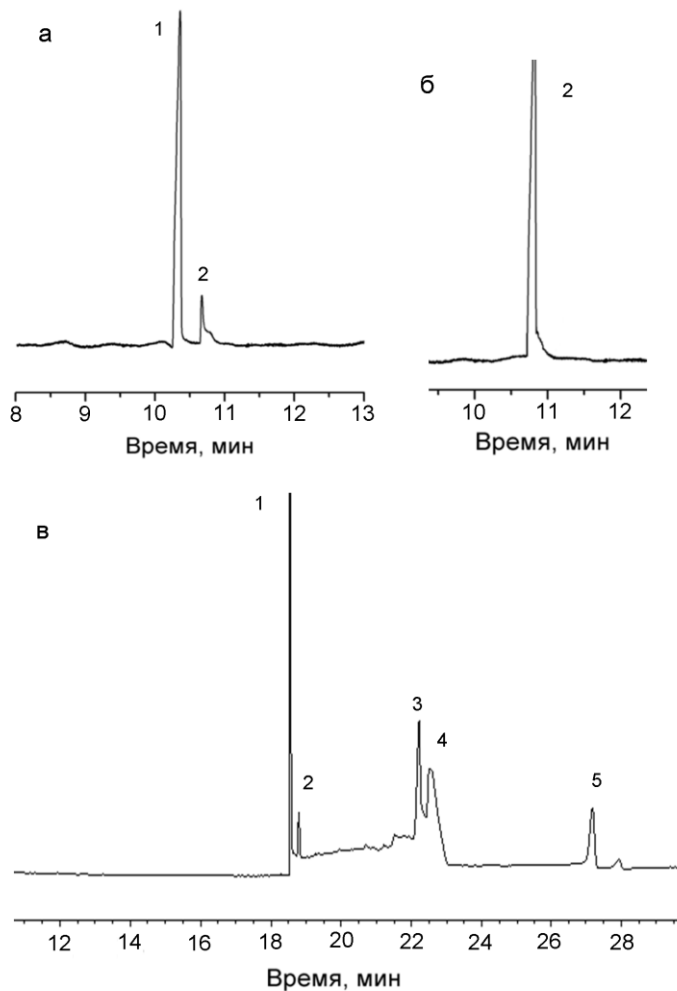
Представлялось целесообразным оценить возможности подхода *in-capillary* для изучения продуктов синтеза, имеющих более сложную природу, в качестве которых были выбраны комплексы смешанных фосфомолибдатов, содержащих в своей структуре атом ванадия.

### 5.3. Изучение процесса образования комплекса $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$

В качестве модельной системы была выбрана реакция синтеза комплекса фосфованадомолибдата состава  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ , которая представляла интерес еще и потому, что ранее в рамках данной работы была изучена условно-модельная смесь комплексов состава  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$ , которая образуется из исходных компонентов в соответствии с уравнением:



При проведении реакции непосредственно в капилляре в качестве реагента 1 вводили смесь дигидрофосфат- и метаванадат-аниона, а в качестве реагента 2 – молибдат-ион, так как предварительно было установлено, что молибдат-ион формирует зону, мигрирующую быстрее, чем любой из компонентов смеси дигидрофосфат-метаванадат. Это и определило порядок их ввода в капилляр. При сопоставлении возможностей *pre-* и *in-capillary*, разделение реакционной смеси в обоих режимах проводили в аналогичных условиях КЗЭ. Для этого в качестве реагента 1 вводили реакционную смесь, содержащую все три компонента ( $MoO_4^{2-}$ ,  $VO_3^-$ ,  $H_2PO_4^-$ ), а вместо реагента 2 вводили разделительный электролит, то есть условия проведения реакции в режиме *pre-capillary* аналогичны таковым для режима *in-capillary*. На рис. 35 приведены электрофореграммы, характеризующие разделение продуктов реакции синтеза фосфованадомолибдат-иона  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ : в режиме *pre-capillary* и *in-capillary*. Видно, что в результате реакции *pre-capillary* образуются два продукта, один из которых соответствует фосфомолибдат-иону. При проведении реакции в режиме *in-capillary* также образуется 2 продукта, один из которых, вероятнее всего, соответствует комплексу фосфованадомолибдата  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ , а второй – комплексу фосфомолибдата  $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ , который, по всей видимости, является побочным продуктом.



**Рис. 35.** Электрофореграммы комплекса  $[PVMo_{12}O_{40}]^{4-}$ , полученного в режиме *pre-capillary* (а), комплекса  $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$  (б), компонентов смеси при проведении реакции синтеза  $[PVMo_{12}O_{40}]^{4-}$  *in-capillary*. 1—комплекс  $[PVMo_{12}O_{40}]^{4-}$ , 2— $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ , 3, 4 — формы молибдат-иона, 5 — комплексы  $\{VO_3^- + H_2PO_4^-\}$

Идентификация комплекса  $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ , фосфат-иона и комплексов метаванадат-дигидрофосфат выполнена с применением стандартных образцов по временам миграции. Видно, что при проведении реакции внутри капилляра на электрофореграмме регистрируется большее число пиков по сравнению с *pre-capillary*, среди которых идентифицируются пики исходных компонентов (рис. 35, в).

### 5.3.1. Идентификация продуктов реакции в режиме *in-capillary* по значениям электрофоретических подвижностей

Классический способ идентификации аналитических сигналов по значениям электрофоретических подвижности в случае проведения реакции непосредственно в разделительном капилляре не пригоден из-за того, что образование продуктов и, соответственно, исходная точка начала их миграции находится в зоне смешивания реагентов на некотором расстоянии от входного конца капилляра. Это расстояние соответствует пути, который реально проходят продукты реакции, и оно меньше эффективной длины капилляра и пути, которое проходят исходные компоненты. Следует также учитывать, что миграция более медленного компонента, вводимого первым, также начинается не от входного конца капилляра, а на расстоянии от него,

равном сумме длин зоны разделительного электролита и зоны второго реагента ( $\tau_2$  и  $\tau_3$  соответственно в табл. 14). В случае проведения реакции *in-capillary* при раздельном вводе реагентов во внутреннем объеме капилляра происходит не только миграция компонентов, но и взаимодействие между ними, а так же разделение исходных веществ и продуктов реакции (рис. 27). Процесс, который происходит в капилляре, можно таким образом разбить на три основных стадии:

- 1) миграция исходных реагентов вдоль капилляра;
- 2) перемешивание зон реагентов на определенном отрезке капилляра, сопровождающееся химической реакцией;
- 3) миграция и разделение не вступивших в реакцию реагентов и продуктов реакции.

Нами была предложена модель, которая при некоторых допущениях на основе известных значений подвижностей исходных компонентов и условий проведения КЗЭ позволяет рассчитать значение электрофоретической подвижности образующегося продукта. Данная модель основана на двух приближениях, а именно:

- реакция протекает мгновенно и по всему объему реакционных зон;
- вязкость электролита примерно равна вязкости воды.

Так как для того, чтобы произошло перемешивание и протекание реакции, необходимо, чтобы зоны реагентов находились на одном и том же расстоянии от начала капилляра, то можно записать уравнение:

$$tv_1 + x = tv_2 \quad (14),$$

где  $t$  – время миграции зон до перемешивания,  $x$  – расстояние зоны первого реагента от начала капилляра,  $v_i$  – скорости миграции  $i$ -го компонента,  $v_1 > v_2$ .

Так как подвижность можно рассчитать по соотношению:

$$\mu = \frac{v}{E}, \quad (15)$$

где  $v$  – скорость миграции компонента,  $E$  – напряженность электрического поля, то для расчета подвижности того или иного продукта необходимо знать скорость его миграции. Оценить скорость миграции продукта (при отсутствии его в виде индивидуального соединения) можно, принимая во внимание время его миграции с момента образования и расстояние, на котором произошло перемешивание зон:

$$\mu = \frac{L - tv_2}{E(t_{pr} - t)} \quad (16),$$

где  $L$  – эффективная длина капилляра,  $t$  – время миграции исходных реагентов до перемешивания,  $v_2$  – скорость миграции компонента, вводимого в капилляр

последним. Разность, стоящая в числителе, является расстоянием от места перемешивания зон до окна детектора, то есть то расстояние, которое пройдут образовавшиеся продукты реакции до их регистрации. Разность  $t_{pr}-t$  представляет собой то время, в течение которого мигрируют продукты после их образования. Для расчета подвижности таким образом необходимо знать величину  $t$ .

Из уравнения 14 следует, что:

$$t = \frac{x}{(v_2-v_1)} = \frac{x}{E(\mu_2-\mu_1)} \quad (17),$$

где  $v_i$  – скорость миграции  $i$ -го компонента,  $\mu_i$  – подвижность  $i$ -го компонента.

С другой стороны,  $x=l_{BGE}+l_2$ , где  $l_{BGE}$  – длина зоны разделительного электролита между зонами реагентов,  $l_2$  – длина зоны реагента, введенного вторым. Длины зон можно рассчитать, зная параметры капилляра и условия ввода:

$$l_{BGE} = \frac{r^2 p \tau_2}{8L\eta} \quad (18)$$

$$l_2 = \frac{\tau_3 p r^2}{8L\eta} \quad (19)$$

Тогда выражение для  $x$  приобретает вид:

$$x=l_1+l_{BGE} = \frac{pr^2(\tau_2+\tau_3)}{8L\eta} \quad (20),$$

и, соответственно,

$$t = \frac{x}{E(\mu_2-\mu_1)} = \frac{pr^2(\tau_3+\tau_2)}{8LE(\mu_2-\mu_1)} \quad (21).$$

Таким образом, подвижность продукта реакции можно рассчитать по формуле:

$$\mu = (L - \frac{pr^2(\tau_3+\tau_2)}{8L(\mu_2-\mu_1)}\mu_1) / (t_{pr} - \frac{pr^2(\tau_3+\tau_2)}{8LE(\mu_2-\mu_1)}) \quad (22)$$

В табл. 16 приведены обозначения параметров, входящих в состав уравнения 22.

Т а б л и ц а 16

### Величины, входящие в формулу 22

$r$	Радиус капилляра
$P$	Давление ввода
$t_i$	Время ввода $i$ -го компонента
$\tau$	Время выхода пика продукта
$\mu_i$	Подвижность $i$ -го компонента
$L$	Общая длина капилляра
$E$	Напряженность поля
$U=(E \cdot L)$	Напряжение, прикладываемое к концам капилляра
$x$	Расстояние от зоны реагента, вводимого первым до начала капилляра

В соответствии с данным уравнением были рассчитаны подвижности для двух продуктов, образующихся в ходе реакции синтеза фосфованадомолибдата. Полученные значения были сопоставлены с величинами электрофоретических подвижностей комплексов, образование которых наиболее вероятно в ходе данной реакции, которые были рассчитаны нами ранее из эксперимента для условно-модельной смеси фосфованадомолибдатов. В табл. 17 приведены значения, рассчитанные для пиков продуктов, образующихся в реакции *in-capillary*, и значения подвижностей для компонентов условно-модельной смеси. Для того чтобы учесть возможные изменения в результатах разделения, связанные с изменением внешних условий, рассчитываемые подвижности нормированы на подвижность молибдат-иона.

Т а б л и ц а 17

**Значения нормированной электрофоретической подвижности для компонентов условно-модельной смеси и продуктов, образующихся в ходе реакции *in-capillary***

Условно-модельная смесь <i>pre-capillary</i>		Экспериментальные данные для реакции образования $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$		
Компонент	Нормированная э/ф подвижность	№ пика	Нормированная э/ф подвижность	Предполагаемое отнесение пиков
$[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$	0,60(±0,07)	Пик 2	0,59(±0,01)	$[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$
$[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$	0,63(±0,11)	Пик 1	0,63(±0,03)	$[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$
$[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$	0,65(±0,06)			
$[PV_3Mo_9O_{40}]^{3-}$	0,61(±0,03)			

Предложенная модель позволила провести идентификацию аналитических сигналов продуктов реакции по данным об их электрофоретических подвижностях. Оказалось, что в ходе реакции образуется целевой компонент – комплекс  $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ , а также побочный продукт – комплекс  $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ .

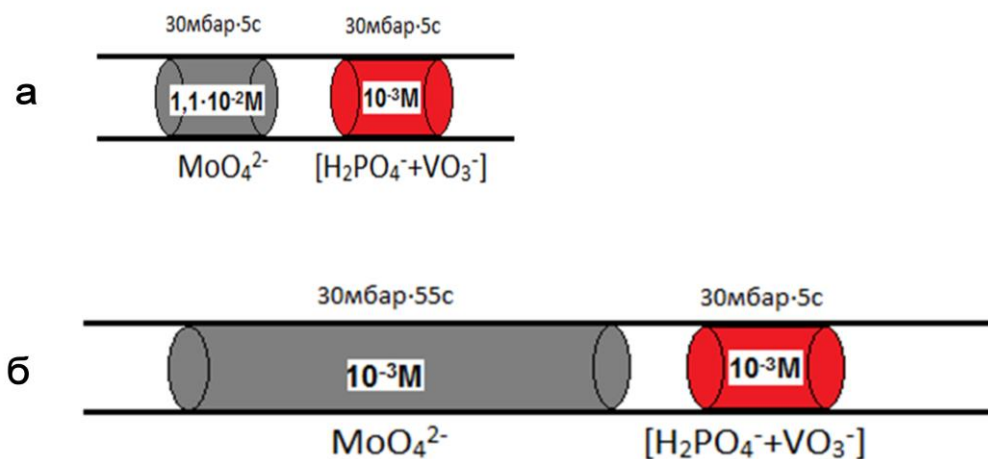
**5.3.2. Реакция образования ПОМ состава  $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{3-x}$  при различных соотношениях количеств реагентов**

Для оценки возможностей режима *in-capillary* исследование реакции образования фосфованадомолибдата проводилось для различных соотношений количеств реагентов. Для всех режимов (*pre-capillary* и *in-capillary*) были использованы три схемы проведения процесса:



- 1) избыток молибдат-иона
- 2) избыток смеси  $\{VO_3^- + H_2PO_4^-\}$
- 3) стехиометрическое соотношение реагентов согласно уравнению реакции ( $MoO_4^{2-}:VO_3^-:H_2PO_4^- = 11:1:1$ )

Для всех схем соотношение количеств реагентов достигалось двумя способами (рис. 36, а и б).

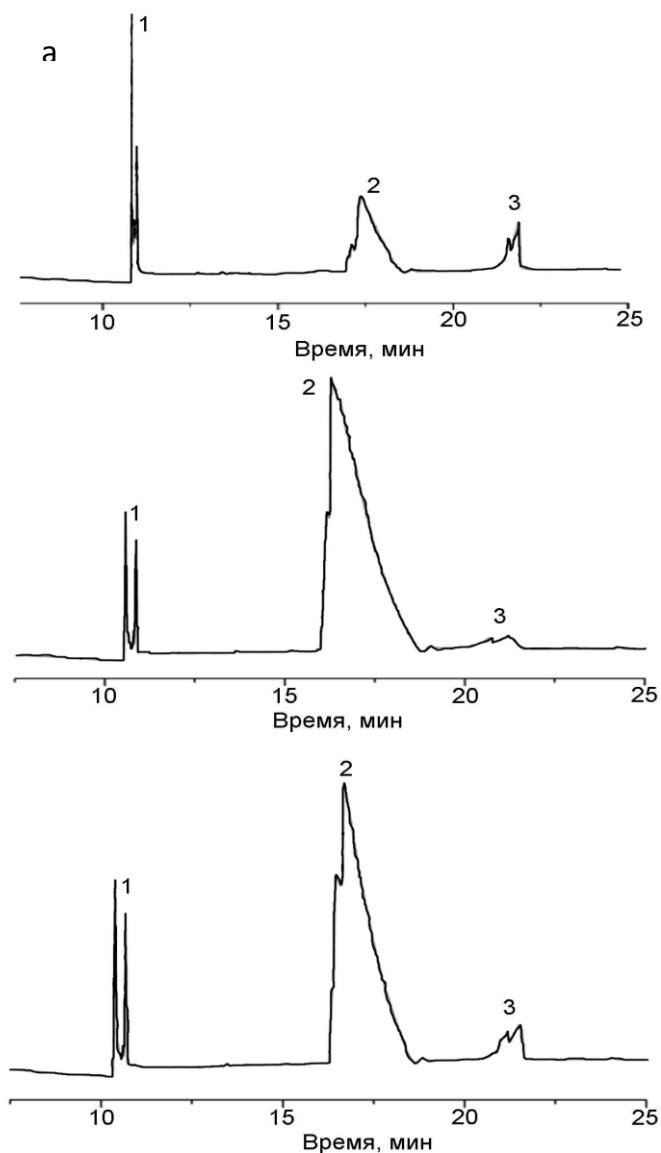


**Рис. 36.** Способы отдельного ввода реагентов в капилляр в определенном соотношении: за счет увеличения концентрации вводимого реагента в растворе в соответствии со стехиометрическим соотношением при одинаковых условиях ввода пробы в капилляр (30 мбар·20 с) (а), за счет увеличения времени ввода реагентов (30 мбар) при их в равных концентрациях растворе ( $10^{-3}M$ ) (б)

Как уже отмечалось, с одной стороны, увеличение концентрации реагента в зоне приводит к увеличению скорости реакции, с другой стороны при уменьшении протяженности зоны мы уменьшаем время их контакта, а значит, и время реакции. Соответственно, существуют два фактора, которые оказывают противоположенное влияние на количество образующегося продукта: увеличение скорости реакции приводит к увеличению количества образующегося в единицу времени продукта, но, с другой стороны, размер зон ограничивает время реакции и количество образующегося продукта соответственно. Предсказать, какой результат может быть получен, достаточно сложно.

Наибольшая информативность результатов, а именно, формирование выраженных сигналов продуктов реакции и исходных компонентов, наблюдаются при втором способе ввода, то есть при вводе зон реагентов с одинаковыми концентрациями, но с различной протяженностью.

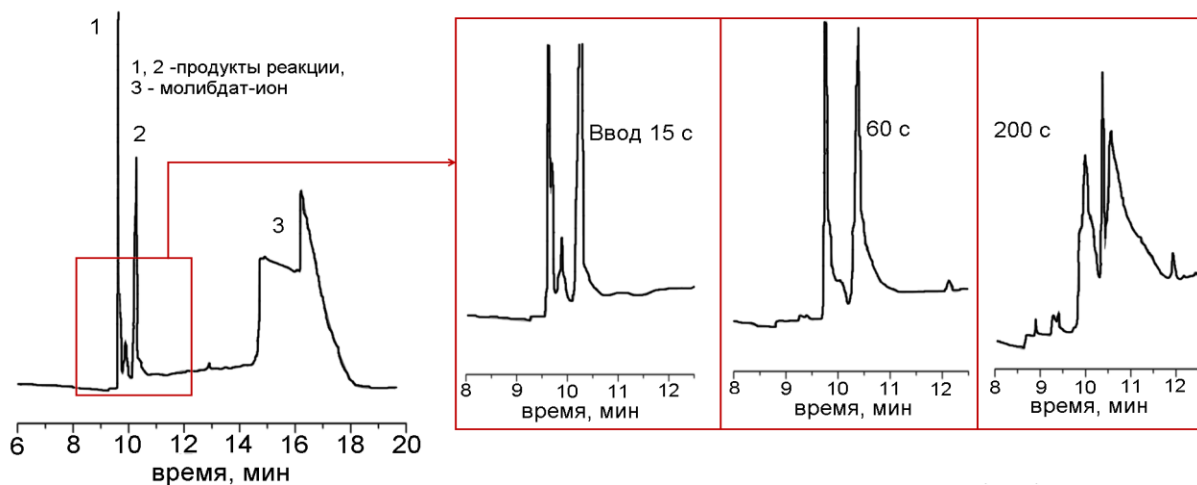
На рис. 37 приведены электрофореграммы, соответствующие вводу реагентов в стехиометрическом соотношении (а), с избытком молибдат-иона (б) и избытком метаванадат- и дигидрофосфат-иона (в).



**Рис. 37.** Электрофореграммы, полученные при проведении реакции синтеза фосфованадомолибдата при различном соотношении реагентов: стехиометрическом (а), с избытком молибдат-иона (б), с избытком смеси дигидрофосфат- и метаванадат-ионов (в)

Видно, что во всех случаях наблюдается присутствие пиков как продуктов реакции, так и исходных компонентов. То есть, реакция протекает не полностью даже при избытке того или иного реагента.

Следует отметить, что при значительном увеличении времени ввода зоны разделительного электролита между реагентами ( $\tau_2$ ) происходит уменьшение площади пиков продукта, сопровождающееся их уширением и искажением (рис. 38) вплоть до полного исчезновения при  $\tau_2 = 250$  с пики продуктов практически исчезали.



**Рис. 38.** Искажение формы пиков продуктов при увеличении длины зоны разделительного электролита между зонами реагентов

Вероятнее всего, данный эффект связан со значительным уширением зон реагентов до того, как они достигнут точки смешения. Кроме того, не исключена ситуация, когда реагент, введенный вторым, «догоняет» первый, более медленный реагент, в тот момент, когда он уже проходит через окно детектора, то есть реакция протекает непосредственно в области окошка детектора. Фиксируемый во времени пик, получающийся в результате, может быть неправильной формы и характеризоваться низкой эффективностью.

Скорость образования комплексов фосфованадомолибдатов достаточно велика, поэтому время, необходимое для протекания реакции, меньше, чем время, необходимое для разделения компонентов смеси. Тем не менее, видно, что даже в случае стехиометрического соотношения реагентов, на электрофореграмме наблюдаются пики исходных компонентов, что говорит о неполноте протекания реакции, то есть о том, что времени контакта зон для этого недостаточно. Данное предположение подтверждается также тем, что при нестехиометрическом соотношении реагентов наблюдается пик, соответствующий реагенту, взятому в недостатке, например, пик молибдат-иона на рис. 37, б.

Время контакта зон реагентов можно оценить, зная ширину пика продукта у основания. Так как образование продукта происходит в течение всего времени контакта зон реагентов, то ширина пика продукта на электрофореграмме должна быть равна или больше, чем время контакта зон реагентов. Эта величина, судя по наблюдаемой ширине пиков продуктов, составляет порядка 10–20 секунд. С другой стороны, как уже упоминалось, реакция образования исследуемых ПОМ в режиме *pre-capillary* протекает практически мгновенно, поэтому можно предположить, что

скорость реакции в режиме *in-capillary* в значительной мере контролируется диффузионным фактором.

Для того чтобы подтвердить предположение о диффузионном ограничении скорости реакции, для комплексных фосфованадомолибдатов и одного из реагентов, исходя из значений радиусов сольватированных ионов (см. табл. 12) и уравнения Стокса-Эйнштейна были рассчитаны значения коэффициентов диффузии. Затем с помощью коэффициентов диффузии была проведена оценка времен диффузии сольватированных ионов в капилляре диаметром 50 мкм.

Уравнение для коэффициента диффузии Стокса-Эйнштейна имеет вид:

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r} \quad (23),$$

где  $k$  – постоянная Больцмана,  $T$  – температура,  $\eta$  – вязкость среды,  $r$  – радиус частицы.

Зная радиус частицы, из этого выражения можно рассчитать коэффициент диффузии  $D$ , который затем можно использовать для оценки характерного времени миграции частицы в пределах диаметра капилляра:

$$x^2 = 2Dt, \text{ где } x \text{ – расстояние, которое проходит частица за время } t$$

Соответственно,

$$t = \frac{x^2}{2D} \quad (24)$$

В табл. 17 приведены полученные значения коэффициентов диффузии и времен миграции в капилляре:

Т а б л и ц а 17

**Величины рассчитанных коэффициентов диффузии и оценочное время диффузии частиц в пределах капилляра**

Комплекс	$r$ (м)	$D$ (м <sup>2</sup> /с)	$t$ (l=50 мкм), с
[PMo <sub>12</sub> O <sub>40</sub> ] <sup>3-</sup>	8,3*10 <sup>-8</sup>	2,83*10 <sup>-10</sup>	4,41
[PVMo <sub>11</sub> O <sub>40</sub> ] <sup>4-</sup>	7,1*10 <sup>-8</sup>	3,30*10 <sup>-10</sup>	3,78
[PV <sub>2</sub> Mo <sub>10</sub> O <sub>40</sub> ] <sup>5-</sup>	5,5*10 <sup>-8</sup>	4,26*10 <sup>-10</sup>	2,94
[PV <sub>3</sub> Mo <sub>9</sub> O <sub>40</sub> ] <sup>6-</sup>	1,03*10 <sup>-8</sup>	2,28*10 <sup>-10</sup>	5,49
Молибдат-ион	1,17*10 <sup>-8</sup>	2,00*10 <sup>-10</sup>	6,24

Видно, что рассчитанные времена диффузии сопоставимы со временами контакта зон (10–20 с) и, следовательно, могут вносить существенный вклад в процесс взаимодействия реагентов, снижая скорость протекания реакции.

Для режима *in-capillary* применительно к изучению ПОМ можно заключить, что:

1) режим *in-capillary* позволяет исследовать продукты реакций синтеза комплексных соединений, в том числе регистрировать побочные продукты и оценивать расход реагентов в ходе реакции;

2) показано, что условия проведения реакции внутри капилляра (напряжение, исходное расстояние между зонами реагентов) оказывает существенное влияние на параметры пиков продуктов реакции;

3) при проведении реакции синтеза фосфованадомолибдатов наиболее информативным оказался способ ввода, при котором вводились реагенты с одинаковыми концентрациями, но с различной протяженностью зон;

4) показано, что при проведении реакции *in-capillary* существенное влияние на скорость протекания реакции оказывает скорость диффузии компонентов. Время поперечной диффузии комплексов оказалось сопоставимо со временем контакта зон реагентов.

На основании проведенных исследований и представленных результатов (на примере ПОМ различной природы) можно заключить, что предложенный нами подход, основанный на проведении реакций непосредственно в капилляре, представляет собой мощный инструмент для изучения процесса комплексообразования в растворе.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, в результате проведенных исследований оптимизированы условия КЗЭ и ИП-ОФ-ВЭЖХ разделения различных ПОМ, при этом основной акцент в работе сделан на изучение реальных смесей, формирующихся в ходе синтеза того или иного комплекса. Проведена сравнительная оценка возможностей, достоинств и ограничений каждого из методов. Предложен способ идентификации компонентов реакционной смеси с применением элемент-селективного детектора (ИСП-АЭС) и при использовании комплекса методов (ВЭЖХ, КЗЭ и ЯМР). Показана возможность применения режима *in-capillary* для изучения процесса образования ПОМ непосредственно внутри разделительного капилляра. Продемонстрированы возможности КЗЭ применительно к изучению состава ПОМ различной природы в растворах.

Методы ВЭЖХ и КЗЭ могут рассматриваться как перспективные инструменты для изучения состава полиоксометаллатов различной природы. Перспективными направлениями развития КЗЭ являются также поиск и развитие потенциальных возможностей режима *in-capillary*:

1) благодаря сравнительно медленной диффузии компонентов во время протекания реакции, подход *in-capillary* дает потенциальную возможность наблюдать продукты, образующиеся на начальных стадиях реакции. Это возможно в том случае, если они мигрируют за пределы реакционной зоны до того, как успеют вступить во взаимодействие с другими компонентами реакционной смеси.

2) с другой стороны, существует возможность при подборе подходящих условий (например, количества того или иного реагента, напряжения и т.д.) определять кажущиеся порядки реакции по тому или иному компоненту путем измерения площадей пиков. При значительном избытке того или иного компонента, в уравнении, описывающем скорость реакции, можно пренебречь изменением концентрации этого компонента во времени. Тогда количество продукта, образующегося за фиксированное время контакта реагентов, будет зависеть только от концентрации реагента, взятого в недостатке, и степени, в которой его концентрация входит в уравнение для кажущейся скорости реакции. Это, по сути, является аналогом классического подхода к измерению кажущихся порядков реакции при различных кинетических исследованиях, когда один из реагентов берется в избытке.

## **ВЫВОДЫ**

1. Впервые для изучения компонентов смеси фосфованадомолибдатов состава  $[\text{PMo}_{12-x}\text{V}_x\text{O}_{40}]^{-(3+x)}$  были применены сепарационные методы исследования. Для идентификации компонентов были сопоставлены результаты ВЭЖХ, КЗЭ и данные ЯМР-спектроскопии на ядрах  $^{51}\text{V}$ , которые согласуются между собой.

2. Проведено сравнение возможностей методов КЗЭ и ВЭЖХ применительно к изучению состава комплексных полиоксометаллатов на примере смеси фосфованадомолибдатов состава  $[\text{PMo}_{12-x}\text{V}_x\text{O}_{40}]^{-(3+x)}$ . Установлено, что ВЭЖХ при более низкой эффективности разделения демонстрирует более высокие значения разрешений для пар соседних пиков, в то время как для КЗЭ наблюдается обратная ситуация, т.е. большая эффективность и меньшее разрешение. Существенным ограничением ИП-ОФ-ВЭЖХ является возможность образования труднорастворимых ассоциатов с ион-парными реагентами, что осложняет разделение и ухудшает эксплуатационные свойства используемых хроматографических колонок.

3. Правильность идентификации компонентов смеси фосфованадомолибдатов была подтверждена данными о составе, полученными методом ИП-ОФ-ВЭЖХ-ИСП-АЭС. Полученные результаты согласуются с данными ЯМР спектроскопии.

4. Идентифицированы новые, не исследовавшиеся ранее, полиоксометаллаты с применением метода КЗЭ, а именно:

- смешанные ГПС состава  $[(\text{SeM}_9\text{O}_{33})_2(\text{MO}_x(\text{H}_2\text{O})_y)_3]^{n-}$ ,  $\text{M}=\text{W}/\text{V}(\text{IV},\text{V})$
- ГПС на основе ниобия состава  $[\text{SiNb}_{12}\text{O}_{40}]^{16-}$  и ГПС состава  $[\text{V}_3\text{Nb}_{24}\text{O}_{72}]^{9-}$
- ПОМ на основе тантала состава  $\{(\text{arene})\text{Ru}\}_x\text{Ta}_6\text{O}_{19}$ .

5. Предложен новый подход к исследованию комплексных ПОМ состава  $[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$  в растворе путем проведения реакции синтеза непосредственно в разделительном капилляре. Установлена связь между параметрами пиков и условиями разделения (приложенное напряжение, расстояние между зонами реагентов). Выбраны оптимально-компромиссные условия проведения эксперимента, которых обеспечивают наилучшее сочетание эффективности разделения, симметрии и площади регистрируемых сигналов.

6. Предложен способ идентификации продуктов реакции образования ПОМ на основе расчета электрофоретических подвижностей компонентов смеси в режиме *in-capillary*.

## Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Zdanov A.A., Shuvaeva O.V. The study of polyoxometalates formation processes using capillary zone electrophoresis. // *Electrophoresis*. – 2014. – V. 35. – P. 2566–2572.
2. Жданов А.А., Шуваева О.В. Применение методов капиллярного электрофореза и высокоэффективной жидкостной хроматографии для изучения комплексных полиоксометаллатов. // *Журнал структурной химии*. – 2014. – Т. 55. – С. 1239–1244.
3. Abramov P.A., Sokolov M.N., Floquet S., Haouas M., Taulelle F., Cadot E., Peresyphkina E.V., Virovets A.V., Vicent C., Kompankov N.B., Zhdanov A.A., Shuvaeva O.V. and Fedin V.P. Coordination-Induced Condensation of  $[\text{Ta}_6\text{O}_{19}]^{8-}$ : Synthesis and Structure of  $[\{(\text{C}_6\text{H}_6)\text{Ru}\}_2\text{Ta}_6\text{O}_{19}]^{4-}$  and  $[\{(\text{C}_6\text{H}_6)\text{RuTa}_6\text{O}_{18}\}_2(\mu\text{-O})]^{10-}$  // *Inorganic Chemistry*. – 2014. – V. 53. – P. 12791–12798.
4. Жданов А.А., Шуваева О.В., «Применение метода капиллярного электрофореза для изучения химии комплексных полиоксометаллатов». Материалы конференции Аналитика Сибири и Дальнего востока-2012. Красноярск, 2012. С.139.
5. Жданов А.А., Шуваева О.В. «Применение методов капиллярного электрофореза и высокоэффективной жидкостной хроматографии для изучения химии полиоксометаллатов». // Всероссийская конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез»: Тез. докл. Краснодар, 2013. С. 65.
6. Жданов А.А., Шуваева О.В. «Исследование возможностей проведения реакций в режиме in-capillary для изучения химии полиоксометаллатов методом капиллярного электрофореза». // Всероссийская конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез»: Тез. докл. Краснодар, 2013. С. 66.
7. Жданов А.А., Шуваева О.В. «Применение методов капиллярного электрофореза и высокоэффективной жидкостной хроматографии для изучения состава комплексных полиоксометаллатов». // Конкурс-конференция молодых ученых, посвященная 110-летию ак. А.В.Николаева: Тез. докл. Новосибирск, 2012. С. 56.
8. Жданов А.А., Шуваева О.В. «Применение методов капиллярного электрофореза и высокоэффективной жидкостной хроматографии для изучения комплексных полиоксометаллатов». Научная конференция «Методы исследования состава и структуры функциональных материалов – 2013»: Тез. докл. Новосибирск, 2013. С. 225–226.



### *Список литературы*

1. Pope M.T. Heteropoly and Isopoly Oxometalates / Pope M. T. Springer-Verlag: New York. – 1983.
2. Day V.W., Klemperer W.G. Metal oxide chemistry in solution: the early transition metal polyoxoanions // *Science* (Washington, D.C.). – 1985. – V. 228. – P. 533.
3. Fox M.A., Cardona R. Gaillard G. Photoactivation of Metal Oxide Surfaces: Photocatalyzed Oxidation of Alcohols by Heteropolytungstates // *Journal of American Chemical Society*. – 1987. – V. 109. – P. 6347–6354.
4. Keana J.F.W., Ogan M.D., Lu Y., Beer M., Varkey J. Functionalized Keggin- and Dawson-type cyclopentadienyltitanium heteropolytungstate anions: small, individually distinguishable labels for conventional transmission electron microscopy. 2. Reactions // *Journal of American Chemical Society*. – 1986. – V. 108. – P. 7957–7963.
5. Seemann K.M., Bauer A., Kindervater J., Meyer M., Besson C., Luysberg M., Durkin P., Pyckhout-Hintzen W., Budisa N., Georgii R., Schneider C.M., Kögerler P. Polyoxometalate-stabilized, water dispersible Fe<sub>2</sub>Pt magnetic nanoparticles // *Nanoscale*. – 2013. – V. 5. – P. 2511–2519.
6. Rozenbaum W., Dormont D., Spire B., Vilmer E., Gentelini M., Griscelli C., Montagnier L., Barre-Sinoussi F., Chermann J.C. // *Lancet*. – 1985. – V. I. – P. 450.
7. Neumann R. Activation of Molecular Oxygen, Polyoxometalates, and Liquid-Phase Catalytic Oxidation // *Inorganic Chemistry*. – 2010. – V. 49. – P. 3594–3601.
8. Weinstock I.A. Homogeneous-Phase Electron-Transfer Reactions of Polyoxometalates // *Chemical Reviews*. – 1998. – V. 98. – P. 113–170.
9. Kikukawa Y., Kuroda Y., Suzuki K., Hibino M., Yamaguchi K., Mizuno N. A discrete octahedrally shaped [Ag<sub>6</sub>]<sup>4+</sup> cluster encapsulated within silicotungstate ligands // *Chemical Communication*. – 2013. – V. 49. – P. 376–378.
10. Ogasawara Y., Uchida S., Maruichi T., Ishikawa R., Shibata N., Ikuhara Y., Mizuno N. Cubic Cesium Hydrogen Silicododecatungstate with Anisotropic Morphology and Polyoxometalate Vacancies Exhibiting Selective Water Sorption and Cation-Exchange Properties // *Chemistry of Materials*. – 2013. – V. 25. – P. 905–911.
11. Alotaibi M.A., Kozhevnikova E.F., Kozhevnikov I.V. Deoxygenation of propionic acid on heteropoly acid and bifunctional metal-loaded heteropoly acid catalysts: Reaction pathways and turnover rates // *Applied catalysis A: General*. – 2012. – V. 447–448. – P. 32–40.
12. Craven M., Yahya R., Kozhevnikova E., Boomishankar R., Robertson C.M., Steiner A., Kozhevnikov I. Deoxygenation of propionic acid on heteropoly acid and bifunctional metal-loaded heteropoly acid catalysts: Reaction pathways and turnover rates // *Chemical Communication*. – 2013. – V. 49. – P. 349–351.
13. Costa V.V., Da Silva Rocha K.A., Kozhevnikov I.V., Kozhevnikova E.F., Gusevskaya E.V. Heteropoly acid catalysts for the synthesis of fragrance compounds from

- biorenewables: isomerization of limonene oxidew // Catalysis Science and Technology. – 2013. – V. 3. – P. 244–250.
14. Revital B.-D., Neumann R. Activation of Nitrous Oxide and Selective Oxidation of Alcohols and Alkylarenes Catalyzed by the  $[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$  Polyoxometalate Ion // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2003. – V. 42. – P. 92–95.
  15. Ressler T., Dorn U., Walter A., Schwarz S., Hahn A.H.P. Structure and properties of  $PVMo_{11}O_{40}$  heteropolyoxomolybdate supported on silica SBA-15 as selective oxidation catalyst // *Journal of Catalysis*. – 2010. – V. 275 – P. 1–10.
  16. Pope M.T. Heteropoly and isopoly anions as oxocomplexes and their reducibility to mixed-valence blues // *Inorganic Chemistry*. – 1972. – V. 11. – P. 18.
  17. Weinstock I.A. Homogeneous-phase electron-transferreactions of polyoxometalates // *Chemical Reviews*. – 1998. –V.98. – P.113.
  18. Sadakane M., Steckhan E. Electrochemical properties of polyoxometalates as electrocatalysts // *Chemical Reviews*. – 1998. – V. 98. –P. 219.
  19. Kozhevnikov I.V. Catalysts for one chemicals, vol. 2: Catalysis by polyoxometalates / Kozhevnikov I.V. Wiley, Chichester, UK. – 2002.
  20. Kozhevnikov I. V. Sustainable heterogeneous acid catalysisby heteropoly acids // *Journal Molecular Catalysis A: Chemical*. – 2007. – V. 262 – P. 86.
  21. Mizuno N., Misono M. Heterogeneous catalysis // *Chemical Reviews*. – 1998. – V. 98. – P. 199–217.
  22. Hill C.L. Progress and challenges in polyoxometalatebasedcatalysis and catalytic materials chemistry // *Journal Molecular Catalysis A: Chemical*. – 2007. – V. 262 . – P. 2–6.
  23. Vazylyev M., Sloboda-Rozner D., Haimov A., Maayan G., Neumann R. Strategies for oxidation catalyzed by polyoxometalates at the interface of homogeneous and heterogeneous catalysis // *Topics in Catalysis*. – 2005. – V. 34 – P. 93.
  24. Keita B., Nadjó L. Polyoxometalate-based homogeneous catalysis of electrode reactions: recent achievements // *Journal Molecular Catalysis A: Chemical*. – 2007. – V. 262 – P. 190–215.
  25. Vasylyev M.V., Neumann R. New heterogeneous polyoxometalate based mesoporous catalysts for hydrogenperoxide mediated oxidation reactions // *Journal Molecular Catalysis A: Chemical*. – 2004. – V. 126. – P. 884–889.
  26. Bassil B.S., Kortz U.,Tigan A.S., Clemente-Juan J.M., Keita B., de Oliveira P., Nadjó L. Cobalt-Containing Silicotungstate Sandwich Dimer  $[\{Co_3(B-\beta-SiW_9O_{33}(OH))(B-\beta-SiW_8O_{29}(OH)_2)\}_2]^{22-}$  // *Inorganic Chemistry*. – 2005. – V. 44 – P. 9360–9368.
  27. Bonchio M., Carraro M., Scorrano G., Fontananova E., Drioli E. Heterogeneous photooxidation of alcohols in water by photocatalytic membranes incorporating decatungstate // *Advanced Synthesis and Catalysis*. – 2003. – V. 345. – P. 1119.

28. Carraro M., Gardan M., Scorrano G., Drioli E., Fontananova E., Bonchio M. Solvent-free, heterogeneous photooxygenation of hydrocarbons by Hyflon membranes embedding a fluorous-tagged decatungstate // *Chemical Communication*. – 2006. – P. 4533–4533.
29. Fontananova E., Donato L., Drioli E., Lopez L. C., Favia P., d'Agostino R. Heterogenization of polyoxometalates on the surface of plasma-modified polymeric membranes // *Chemistry of Materials*. – 2006. – V. 18. – P. 1561–1567.
30. Rohling D., Rathousk F. J., Rohling Y., Bartels O., Wark M. Functionalized mesoporous silica films as a matrix for anchoring electrochemically active guests // *Langmuir*. – 2005. – V. 21. – P. 11320.
31. Pope M.T., Muller A. Chemie der Polyoxometallate: Aktuelle Variationen über ein altes Thema mit interdisziplinären Bezügen // *Angewandte Chemie*. – 1991. – V. 103. – P. 56–70.
32. Muller A., Roy S. *The Chemistry of Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications* / Muller A., Roy S. Wiley-VCH: Weinheim. – 2004.
33. Hill C.L. Introduction: Polyoxometalates Multicomponent Molecular Vehicles To Probe Fundamental Issues and Practical Problems // *Chemical Reviews*. – 1998. – V. 98. – P. 1–2.
34. Long D.-L., Orr D., Seeber G., Kogerler P., Farrugia L.J., Cronin L. The Missing Link in Low Nuclearity Pure Polyoxovanadate Clusters: Preliminary Synthesis and Structural Analysis of a New  $\{V_{16}\}$  Cluster and Related Products // *Journal of Cluster Science*. – 2003. – V. 14. – P. 313–315.
35. Long D.-L., Burkholder E., Cronin L. Polyoxometalate clusters, nanostructures and materials: From self assembly to designer materials and devices // *Chemical Society Reviews*. – 2007. – V. 36 – P. 121.
36. Ammam M. Polyoxometalates: formation, structures, principal properties, main deposition methods and application in sensing // *Journal of Material Chemistry A*. – 2013. – P. 1–57.
37. Long D.-L., Tsunashima R., Cronin L. Polyoxometalates: Building Blocks for Functional Nanoscale Systems // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2010. – V. 49. – P. 1736–1758.
38. Cavallini M., Biscarini F., Lron S., Zerbetto F., Bottari G., Leigh D.A. Information Storage Using Supramolecular Surface Patterns // *Science*. – 2003. – V. 299. – P. 531–544.
39. Liu Z., Yasserli A.A., Lindsey J.S., Bocian D.F, Molecular memories that survive silicon device processing and real-world operation // *Science*. – 2003. – V. 302. – P. 1543–1545.

40. Collier C.P., Wong E.W., Belohradsky M., Raymo F.M., Stoddart J.F., Kuekes P.J., Williams R. S., Heath J. R. Electronically Configurable Molecular-Based Logic Gates // *Science*. – 1999. – V. 285. – P. 391–394.
41. Yoshimura I., Miyahara Y., Kasagi N., Yamane H., Ojida A., Hamachi I. Molecular Recognition in a Supramolecular Hydrogel to Afford a Semi-Wet Sensor Chip // *Journal of American Chemical Society*. – 2004. – V. 126. – P. 12204–12205.
42. Maue M., Schrader T. A color sensor for catecholamines // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2005. – V. 44. – P. 2265–2270.
43. Maue M., Schrader T. A color sensor for catecholamines // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2005. – V. 117. – P. 2305–2310.
44. Long D.-L., Abbas H., Kogerler P., Cronin L. A High-Nuclearity «Celtic-Ring» Isopolyoxotungstate,  $[H_{12}W_{36}O_{120}]^{12-}$ , That Captures Trace Potassium Ions // *Journal American Chemical Society*. – 2004. – V. 126. – P. 13880–13881.
45. Miras H.N., T. Cooper G.J., Long D.L., Bogger H., Muller A., Streb C., Cronin L. Unveiling the Transient Template in the Self-Assembly of a Molecular Oxide Nanowheel // *Science*. – 2010. – V. 327. – P. 72–74.
46. Mitchell S.G., Ritchie C., Long D.-L., Cronin L. Isolation of extendable transition metal incorporated polyoxometalate intermediates with structural control // *Dalton Transactions*. – 2008. – P. 1415–1417.
47. Ritchie C., Miras H.N., Streb C., Mitchell S.G., Boyd T., Ochoa M.N.C., Rosnes M.H., McIver J., Long D.L., Cronin L. Modular Inorganic Polyoxometalate Frameworks Showing Emergent Properties: Redox Alloys // *Angewandte Chemie*. – 2010. – V. 122. – P. 7138–7142.
48. Thiel J., Ritchie C., Streb C., Long D.L., Cronin L. Heteroatom-Controlled Kinetics of Switchable Polyoxometalate Frameworks // *Journal American Chemical Society*. – 2009. – V. 131. – P. 4180–4181.
49. Anderson T.M., Zhang X., Hardcastle K.I., Hill C.L. Reactions of Trivacant Wells–Dawson Heteropolytungstates. Ionic Strength and Jahn-Teller Effects on Formation in Multi-Iron Complexes // *Inorganic Chemistry*. – 2002. – V. 41. – P. 2477–2488.
50. Geletii Y.V., Hill C.L., Bailey A.J., Hardcastle K.I., Atalla R.H., Weinstock I.A. Electron exchange between  $\alpha$ -keggin tungstoaluminates and a well-defined cluster-anion probe for studies in electron transfer // *Inorganic Chemistry*. – 2005. – V. 44. – P. 8955–8966.
51. Zhang J., Li D., Liu G., Glover K.J., Liu T.J. Lag Periods During the Self-Assembly of  $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$  Macroions: Connection to the Virus Capsid Formation Process // *Journal American Chemical Society*. – 2009. – V. 131. – P. 15152–15159.

52. Matsumoto K.Y., Kato M., Sasaki Y. The Crystal Structure of Ammonium Pentamolybdo-disulfate (IV)(4-) Trihydrate  $(\text{NH}_4)_4[\text{SiV}_2\text{Mo}_5\text{O}_{21}] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  // Bulletin of the Chemical Society of Japan. – 1976. – V. 49. – P. 106–110.
52. Kudo T. A new heteropolyacid with carbon as a heteroatom in a Keggin-like structure // Nature. – 1984. – V. 312. – P. 537–538.
53. Krebs B., Klein R. Synthesis and structural chemistry of novel heteropolymolybdates and -tungstates // Molecular Engineering. – 1993. – V. 3. – P. 43–59.
54. Cronin L. // Comprehensive Coordination Chemistry II. – 2004. – P. 1–57.
55. Belai N., Pope M.T. Chelated heteroatoms in polyoxometalates and the topological equivalence of  $\{\text{CoIII}(\text{en})\}$  to type II cis-dioxometal centers. Synthesis and structure of  $[\{\text{Co}(\text{en})(\text{m-OH})_2\text{Co}(\text{en})\}\{\text{PW}_{10}\text{O}_{37}\text{Co}(\text{en})\}_2]_{82}$  and  $[\text{K}\{\text{Co}(\text{en})\text{WO}_4\}\{\text{WO}(\text{H}_2\text{O})\}(\text{PW}_9\text{O}_{34})_2]_{122}$  // Chemical Communications. – 2005. – P. 5760–5762.
56. Long D.L., Abbas H., Kogerler P., Cronin L. Confined Electron-Transfer Reactions within a Molecular Metal Oxide «Trojan Horse» // Angewandte Chemie International Edition. – 2005. – V. 44. – P. 3415–3419.
57. Baffert C., Feldberg S.W., Bond A.M., Long D.L., Cronin L. pH-Dependence of the aqueous electrochemistry of the two-electron reduced  $\alpha$ - $[\text{Mo}_{18}\text{O}_{54}(\text{SO}_3)]$  sulfite Dawson-like polyoxometalate anion derived from its triethanolammonium salt // Dalton Transactions. – 2007. – P. 4599–4607.
58. Fay N., Bond A., Baffert C., Boas J., Pilbrow J., Long D.-L., Cronin L. Structural, electrochemical, and spectroscopic characterization of a redox pair of sulfite-based polyoxotungstates:  $\alpha$ - $[\text{W}_{18}\text{O}_{54}(\text{SO}_3)_2]_{4-}$  and  $\alpha$ - $[\text{W}_{18}\text{O}_{54}(\text{SO}_3)_2]_{5-}$  // Inorganic Chemistry. – 2007. – V. 46. – P. 3502–3510.
59. Evans H.T., Konnert Jr. and J. A. The crystal chemistry of sherwoodite, a calcium 14-vanadoaluminate heteropoly complex // American Mineralogist. – 1978. – V. 63. – P. 863.
60. Williams S.A. Mendozavilite and paramendozavilite, two new minerals from Cumobabi, Sonora // Boletín de Mineralogía. – 1986. – V. 2. – P. 13–17.
61. Veen S.J., Kegel W.K. Structural instability of shell-like assemblies of a keplerate-type polyoxometalate induced by ionic strength // Journal of Physical Chemistry B. – 2009. – V. 113. – P. 15137–15140.
62. Contant R., Herve G. The heteropolyoxotungstates: relationships between routes of formation and structures // Reviews in Inorganic Chemistry. – 2002. – V. 22. – P. 63.
63. Long D.L., Cronin L. Towards Polyoxometalate-Integrated Nanosystems // Chemistry – A European Journal. – 2006. – V. 12. – P. 3698–3706.
64. Long D.L., Kogerler P., Farrugia L.J., Cronin L. Restraining Symmetry in the Formation of Small Polyoxomolybdates: Building Blocks of Unprecedented Topology

- Resulting From «Shrink-Wrapping»  $[H_2Mo_{16}O_{52}]^{10-}$ -Type Clusters // *Angewandte Chemie*. – 2003. – V. 115. – P. 4312–4315.
65. Long D.L., Kogerler P., Farrugia L.J., Cronin L. Restraining Symmetry in the Formation of Small Polyoxomolybdates: Building Blocks of Unprecedented Topology Resulting From «Shrink-Wrapping»  $[H_2Mo_{16}O_{52}]^{10-}$ -Type Clusters // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2003. – V. 42. – P. 4180–4183.
  66. Cronin L. «High Nuclearity Clusters: Iso and Heteropolyxoanions and Relatives»: *Comprehensive Coordination Chemistry II* / Cronin L. Elsevier.: Amsterdam. – 2004.
  67. Long D.L., Song Y.-F., Wilson E.F., Kogerler P., Guo S.X., Bond A.M., Hargreaves J. S. J., Cronin L. Capture of Periodate in a  $\{W_{18}O_{54}\}$  Cluster Cage Yielding a Catalytically Active Polyoxometalate  $[H_3W_{18}O_{56}(IO_6)]^{6-}$  Embedded with High-Valent Iodine // *Angewandte Chemie*. – 2008. – V. 120. – P. 4456–4459.
  68. Long D. L., Song Y. F., Wilson E. F., Kogerler P., Guo S. X., Bond A. M., Hargreaves J. S. J., Cronin L. Capture of Periodate in a  $\{W_{18}O_{54}\}$  Cluster Cage Yielding a Catalytically Active Polyoxometalate  $[H_3W_{18}O_{56}(IO_6)]^{6-}$  Embedded with High-Valent Iodine // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2008. – V. 47. –P. 4384 – 4387.
  69. D.L. Long, P. Kogerler, Cronin L. Old Clusters with New Tricks: Engineering S...S Interactions and Novel Physical Properties in Sulfite-Based Dawson Clusters // *Angewandte Chemie*. – 2004. – V. 116. – P. 1853–1856.
  70. Long D.L., Kogerler P., Cronin L. Old Clusters with New Tricks: Engineering S...S Interactions and Novel Physical Properties in Sulfite-Based Dawson Clusters // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2004. – V. 43. – P. 1817–1820.
  71. Ozawa Y., Sasaki Y. Synthesis and Crystal Structure of  $[(CH_3)_4N]_6[H_3BiW_{18}O_{60}]$  // *Chemistry Letters*. – 1987. – V. 16. – P. 923–926.
  - 72 Jeannin Y., Martinferre J. X-ray study of  $(NH_4)_7[H_2AsW_{18}O_{60}] \cdot 16H_2O$ : first example of a heteropolyanion containing protons and arsenic(III) // *Inorganic Chemistry*. – 1979. – V. 18. – P. 3010–3014.
  73. Yan J., Long D.L., Cronin L. Development of a Building Block Strategy To Access Gigantic Nanoscale Heteropolyoxotungstates by Using  $SeO_3^{2-}$  as a Template Linker // *Angewandte Chemie*. – 2010. – V. 122. – P. 4211–4214.
  74. Yan J., Long D.L., Cronin L. Development of a Building Block Strategy To Access Gigantic Nanoscale Heteropolyoxotungstates by Using  $SeO_3^{2-}$  as a Template Linker // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2010. – V. 49. – P. 4117–4120.
  75. Yan J., Gao J., Long D.L., Miras H.N., Cronin L. Self-assembly of a nanosized, saddle-shaped, solution-stable polyoxometalate anion built from pentagonal building blocks:  $[H_{34}W_{119}Se_8Fe_2O_{420}]^{54-}$  // *Journal American Chemical Society*. – 2010. – V. 132. – P. 11410–11411.

76. Kortz U., Savelieff M.G., Ghali F.Y. A., Khalil L.M., Maalouf S.A., Sinno D.I., Mit Aminosäuren funktionalisierte Heteropolymolybdate von As(III), Sb(III), Bi(III), Se(IV) und Te // *Angewandte Chemie*. – 2002. – V. 114. – P. 4246–4249.
77. Kortz U., Savelieff M.G., Ghali F.Y. A., Khalil L.M., Maalouf S.A., Sinno D.I. Heteropolymolybdates of As(III), Sb(III), Bi(III), Se(IV), and Te(IV) Functionalized by Amino Acids // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2002. – V. 41. – P. 4070–4073.
78. Zhang S.Y., Hu C. L., Sun C. F., Mao J. G. Syntheses and Crystal Structures of a Series of Alkaline Earth Vanadium Selenites and Tellurites // *Inorganic Chemistry*. – 2010. – V. 49. – P. 11627–11636.
79. Vaughey J.T., Harrison W.T.A., Dussack L.L., Jacobson A.J. A new layered vanadium selenium oxide with a structure related to hexagonal tungsten oxide:  $\text{NH}_4(\text{VO}_2)_3(\text{SeO}_3)_2$  // *Inorganic Chemistry*. – 1994. – V. 33. – P. 4370–4375.
80. Manos M. J., Miras H. N., Tangoulis V., Woolins J. D., Slawin A. M. Z., Kabanos T. A. Polyoxovanadium(IV) Sulfite Compounds: Synthesis, Structural, and Physical Studies // *Angewandte Chemie*. – 2003. – V. 115. – P. 441–443.
81. Miras H.N., Raptis R.G., Baran P., Lalioti N., Sigalas M.P., Kabanos T.A. A Novel Series of Vanadium-Sulfite Polyoxometalates: Synthesis, Structural, and Physical Studies // *Chemistry – A European Journal*. – 2005. – V. 11. – P. 2295–2306.
82. Miras H.N., Raptis R., Baran P., Lalioti N., Harrison A., Kabanos T.A. A novel compound with a 1D network structure constructed by  $[(\text{V}^{\text{IV}}\text{O})_6(\mu_4\text{-O})_2(\mu_3\text{-OH})_2(\mu_3\text{-SO}_3)_4]^{2-}/\text{SO}_3^{2-}$  and 4,4'-bipyridine components: its synthesis, characterization, and magnetic behavior // *Comptes Rendus Chimie*. – 2005. – V. 8. – P. 957–962.
83. Izarova N.V., Dickman M.H., Biboum R.N., Keita B., Nadjo L., Ramachandran V., Dalal N. S., Lortz U. Heteropoly-13-Palladates(II)  $[\text{Pd}^{\text{II}}_{13}(\text{AsVPh})_8\text{O}_{32}]^{6-}$  and  $[\text{Pd}^{\text{II}}_{13}\text{Se}^{\text{IV}}_8\text{O}_{32}]^{6-}$  // *Inorganic Chemistry*. – 2009. – V. 48. – P. 7504–7506.
84. Delferro M., Graiff C., Elviri L., Predieri G. Self-assembly of polyoxoselenitopalladate nanostars  $[\text{Pd}_{15}(\mu_3\text{-SeO}_3)_{10}(\mu_3\text{-O})_{10}\text{Na}]^{9-}$  and their supramolecular pairing in the solid state // *Dalton Transactions*. – 2010. – V. 39. – P. 4479–4481.
85. Izarova N.V., Banerjee A., Kortz U. Noble Metals in Polyoxometalate Chemistry: Palladium-Containing Derivatives of the Monolacunary Keggin and Wells–Dawson Tungstophosphates // *Inorganic Chemistry*. – 2011. – V. 50. – P. 10379–10386.

86. Miras H.N., Stone D.J., McInnes E.J. L., Raptis R.G., Baran P., Chilas G.I., Sigalas M. P., Kabanos T.A., Cronin L. Solution identification and solid state characterisation of a heterometallic polyoxometalate  $\{Mo_{11}V_7\}$ :  $[Mo^{VI}_{11}V^V_5V^{IV}_2O_{52}(\mu_9-SO_3)]^{7-}$  // *Chemical Communications*. – 2008. – P. 4703–4705.
87. Miras H.N., Ochoa M.N. C., Long D.L., Cronin L. Controlling transformations in the assembly of polyoxometalate clusters:  $\{Mo_{11}V_7\}$ ,  $\{Mo_{17}V_8\}$  and  $\{Mo_{72}V_{30}\}$  // *Chemical Communications*. – 2010. – P. 8148–8150.
88. Corella-Ochoa M.N., Miras H.N., Kidd A., Long D.L., Cronin L. Assembly of a family of mixed metal  $\{Mo:V\}$  polyoxometalates templated by  $TeO_3^{2-}$ :  $\{Mo_{12}V_{12}Te_3\}$ ,  $\{Mo_{12}V_{12}Te_2\}$  and  $\{Mo_{17}V_8Te\}$  // *Chemical Communications*. – 2011. – V. 47. – P. 8799–8801
89. Canioni R., Marchal-Roch C., Leclerc-Laronze N., Haouas M., Taullle F., Marrot J., Paul S., Lamonier C., Paul J.-F., Loridant S., Millet J.M.M., Cadot E. Selective conversion of  $\{Mo_{132}\}$  Keplerate ion into 4-electron reduced crown-capped Keggin derivative  $[Te_5Mo_{15}O_{57}]^{8-}$ . A key intermediate to single-phase M1 multielement MoVTeO light-alkanes oxidation catalyst // *Chemical Communications*. – 2011. – V. 47. – P. 6413–6415.
90. Corella-Ochoa M.N., Miras H.N., Long D.-L., Cronin L. Controlling the Self-Assembly of a Mixed-Metal Mo/V–Selenite Family of Polyoxometalates // *Chemistry – A European Journal*. – 2012. – V. 18. – P. 13743–13754.
91. Muller A., Krickemeyer E., Meyer J., Bogge H., Peters F., Plass W., Diemann E., Dillinger S., Nonnenbruch F., Randerath M., Menke C.  $[Mo_{154}(NO)_{14}O_{420}(OH)_{28}(H_2O)_{120}]^{-(25\pm 5)}$  A Water-Soluble Big Wheel with More than 700 Atoms and a Relative Molecular Mass of About 24 000 // *Angewandte Chemie*. – 1995. – V. 107. – P. 2293–2295.
92. Muller A., Krickemeyer E., Meyer J., Bogge H., Peters F., Plass W., Diemann E., Dillinger S., Nonnenbruch F., Randerath M., Menke C.  $[Mo_{154}(NO)_{14}O_{420}(OH)_{28}(H_2O)_{120}]^{(25\pm 5)-}$  A Water-Soluble Big Wheel with More than 700 Atoms and a Relative Molecular Mass of About 24 000 // *Angewandte Chemie International Edition*. – 1995. – V. 34. – P. 2122–2126.
93. Muller A., Krickemeyer E., Bogge H., Schimidtmann M., Peters F. Materielle Organisationsformen: ein anorganisches Superfulleren und Keplerat auf Molybdänsauerstoffbasis // *Angewandte Chemie*. – 1998. – V. 110. – P. 3567–3571.
94. Muller A., Krickemeyer E., Bogge H., Schimidtmann M., Peters F. Organizational forms of matter: An inorganic super fullerene and Keplerate based on molybdenum oxide // *Angewandte Chemie International Edition*. – 1998. – V. 37. – P. 3359–3363.
95. Finke R.G. Rapko B. Saxton R.J., Domaille P.J. Trisubstituted Heteropolytungstates as Soluble Metal Oxide Analogues. 3. Synthesis, Characterization,  $^{31}P$ ,  $^{29}Si$ ,  $^{51}V$ , and 1- and 2-D  $^{183}W$  NMR, Deprotonation, and  $H^+$  Mobility Studies of Organic Solvent



- Soluble Forms of  $H_xSiW_9V_3O_{40}^{x-7}$  и  $H_xP_2W_{15}V_3O_{62}^{x-9}$  // Journal American Chemical Society. – 1986. – V. 108. –P. 2947–2960.
96. Suslick K.S., Cook J.C., Rapko B., Droege M.W., Finke R.G., Characterization of Very Large Polyoxoanions by Fast Atom Bombardment Mass Spectroscopy (FABMS) // Inorganic Chemistry. – 1986. – V. 25. – P. 241–243.
97. Song Y.-F., Long D.-L., Ritchie C., Cronin L. Nanoscale Polyoxometalate-Based Inorganic /Organic Hybrids // The Chemical Record. – 2011. – V. 11. – P. 158–171.
98. Kudo T. A new heteropolyacid with carbon as a heteroatom in a Keggin-like structure // Nature. – 1984. –V. 312. –P. 537–53.
99. Long D.-L., Streb C., Song Y.F, Mitchell S., Cronin L. Unravelling the Complexities of Polyoxometalates in Solution Using Mass Spectrometry: Protonation versus Heteroatom Inclusion // Journal of American Chemical Society. – 2008. – V. 130. –P. 1830–1832.
100. Mirasa H.N., Long D.-L., Kögerler P., Cronin L. Bridging the gap between solution and solid state studies in polyoxometalate chemistry: Discovery of a family of  $[VM_{17}]$ -based cages encapsulating two  $\{V^VO_4\}$  moieties // Dalton Transactions. – 2008. – P. 214–221.
101. Wilson E.F., Abbas H., Duncombe B.J., Streb C., Long D.-L., Cronin L. Probing the Self-Assembly of Inorganic Cluster Architectures in Solution with Cryospray Mass Spectrometry: Growth of Polyoxomolybdate Clusters and Polymers Mediated by Silver(I) Ions // Journal of American Chemical Society. – 2008. – V. 130. – P. 13876–13884.
102. Ohlin A.C., Villa E.M., Fettinger J.C., Casey W.H. Distinctly Different Reactivities of Two Similar Polyoxoniobates with Hydrogen Peroxide // Angewandte Chemie. – 2008. – V. 120. – P. 8375–8378.
103. Himeno S., Yoshihara M., Maekawa M. Formation of voltammetrically-active isopolyoxotungstate complexes in aqueous  $CH_3CN$  media // Inorganica Chimica Acta. – 2000. – V. 298. – P. 165–171.
- 104 Tsigdinos G.A., Hallada C.J. Molybdovanadophosphoric Acids and Their Salts. I. Investigation of Methods of Preparation and Characterization // Inorganic Chemistry. – 1968. – V. 7. – P. 437–441.
105. Thouvenot R., Fournier M., Franck R., Rocchiccioli-Deltcheff C. Vibrational Investigations of Polyoxometalates. 3. Isomerism in Molybdenum(VI) and Tungsten(VI) Compounds Related to the Keggin Structure // Inorganic Chemistry. – 1984. – V. 23. – P. 598–605.
106. Himeno S., Takamoto M., Higuchi A., Maekawa M. Preparation and voltammetric characterization of Keggin-type tungstovanadate  $[VW_{12}O_{40}]^{3-}$  and  $[V(VW_{11})O_{40}]^{4-}$  complexes // Inorganica Chimica Acta . – 2003. – P. 34857–34862.

107. Yamase T. Polyoxometalates for Molecular Devices: Antitumor Activity and Luminescence.//Molecular Engineering. – 1993. – V. 3. – P. 241–262.
108. Braungart M., Russel H. Separation of Molybdoheteropoly Acids of Phosphorus, Arsenic, Silicon and Germanium as Ion-Associates by HPLC. Application to Quantitative Determination in Water // Chromatographia. – 1984. – V. 19. – P. 185–187.
109. Umland F., Wunsch G. Über eine indirekte photometrische Bestimmung kleiner Mengen Phosphor // Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie. – 1965. – V.213. – P.186.
110. Taguchi K., Ogata K., Tanaka K., Tanabe S. Determination of phosphate and silicate as their molybdate complexes by thin layer chromatography // Bunseki Kagaku. – 1983. – V. 32. –P. 20.
111. Sakurai N., Kadohata K., Ichinose N. Application of high-speed liquid chromatography using solvent extraction of the molybdoheteropoly yellow to the determination of microamounts of phosphorus in waste waters // Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie. – 1983. – V. 314. – P. 634–637.
112. Mijares K. Novel hybrid materials: functionalized polyoxometalates as potential metaloligands: an abstract of a dissertation PhD / Mijares K. – Kansas, 2008. – P.86.
113. Kirk A.D., Riske W., Lyon D.K., Rapko B. Finke R.G. Rapid, High-Resolution, Reversed-Phase HPLC Separation of Highly Charged Polyoxometalates Using Ion-Interaction Reagents and Competing Ions // Inorganic Chemistry. – 1989. – V. 28. – P. 192–191.
114. Basova E.M., Tsigulev O.N., Dorokhova E.N. Mechanism of the Retention of Ion Associates of Heteropoly Acids with Trioctylamine on a Nitrile Phase // Journal of Analytical Chemistry. – 1997. – V. 52. – P. 979.
115. Basova E.M., Dorokhova E.N. Determination of Phosphorus and Silicon as Vanadomolybdic Heteropoly Complexes by Normal-Phase High-Performance Liquid Chromatography // Journal of Analytical Chemistry. – 1998. – V. 53. – P. 431.
116. Harmalker S.P., Leparulo M.A., Pope M.T. Mixed-valence chemistry of adjacent vanadium centers in heteropolytungstate anions. I. Synthesis and electronic structures of mono-, di-, and trisubstituted derivatives of alpha-octadecatungstodiphosphate(6-) ion (alpha-[P<sub>2</sub>W<sub>18</sub>O<sub>62</sub>]<sup>6-</sup>) // Journal of American Chemical Society. – 1983. – V. 105. – P. 4286.
117. Дубовик Д.Б., Иванов А.В., Нестеренко П.Н., Тихомирова Т.И. Влияние сильного электролита в элюенте на удерживание гетерополикислот фосфора и кремния в ион-парной ОФ-ВЭЖХ // Вестник Московского Университета. Сер. 2. Химия. – 2002. – Т. 43. – С. 300–303.
118. Iskandarani Z., Pietrzyk D. Ion interaction chromatography of organic anions in the presence of tetraalkylammonium salts // Journal of Analytical Chemistry. – 1982. – V. 54. – P. 1065–1071.

119. Bidlingmeyer B.A., Deming S.N., Price W.P., Sachok B., Petrusek M.J. Retention mechanism for reversed phase ion pair liquid chromatography // *Journal of Chromatography*. – 1979. – V. 186. – P. 419–434.
120. Hammers W.E., Aussems C.N.M., Janssen M.J. Induced peaks and the retention mechanism in ion-interaction reversed-phase liquid chromatography of inorganic anions // *Journal of Chromatography*. – 1986. – V. 360 – P. 1.
121. Buckingham D.A., Clark C.R., Deva M.M., Tasker R.F. Reversed-phase high-performance liquid chromatography of diastereoisomeric  $[\text{Co}(\text{en})_2(\text{AA})]^{+2+}$  and  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{AA})]^{2+}$  ions (AA = amino acid anion) // *Inorganic Chemistry*. – 1983. – V. 22. – P. 2754–2759.
122. Buckingham D.A., Clark C.R., Deva M.M., Tasker R. F. Reversed-phase high-performance liquid chromatography of pentaammine cobalt(III) complexes // *Journal of Chromatography*. – 1983. – V. 262. – P. 219–229.
123. Buckingham D.A. Reversed-phase high-performance ion-pair chromatography of cobalt(III) coordination complexes // *Journal of Chromatography*. – 1984. – V. 313. – P. 93–127.
124. Gaudin M.J., Clark C.R., Buckingham D.A. Alkaline hydrolysis of t-ammine[tris(aminoethyl)amine]thiocyanatocobalt(2+) and other t- and p-  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{NH}_3)\text{X}]^{2+}$  complexes // *Inorganic Chemistry*. – 1986. – V. 25. – P. 2569–2575.
125. S. Himeno N., Inazuma E. Simultaneous determination of phosphonate, phosphate, and diphosphate by capillary electrophoresis using in-capillary complexation with Mo(VI) // *Journal of Separation Science*. – 2007. – V. 30. – P. 1077–1081.
126. Himeno S., Sanoa K., Nakashima Y. Simultaneous capillary electrophoretic separation and detection of P(V) and As(V) as heteropoly-blue complexes // *Journal of Chromatography A*. – 2002. – V. 966. – P. 213–219.
127. Kitazumia I., Nakashima Y., Himeno S. Simultaneous electrophoretic determination of vanadium(V) and vanadium(IV) based on the complex formation with a Mo(VI)–P(V) reagent // *Journal of Chromatography A*. – 2001. – V. 939. – P. 123–129.
128. Hettiarachchi K., Ha Y., Tran T., Cheung A.P. Application of HPLC and CZE to the analysis of polyoxometalates // *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*. – 1995. – V. 13. – P. 515–523.
129. Wua N., Lippert A.J., Leea M.L. Practical aspects of ultrahigh pressure capillary liquid chromatography // *Journal of Chromatography A*. – 2001. – V. 911. – P. 1–12.
130. Tsuda T., Hibi K., Nakanishi T., Takeuchi T., Ishii D. Studies Of Open-Tubular Microcapillary Liquid Chromatography // *Journal Of Chromatography*. – 1978. – V. 158. – P. 227–232.
131. Jorgenson J.W. Zone electrophoresis in open-tubular capillaries // *Trends in analytical chemistry*. – 1984. – V. 3. –P. 51–54.

132. Mikkers F.E.P., Everaerts F.M., Verheggen Th.P.E.M. High-performance zone electrophoresis // *Journal of Chromatography*. – 1979. – V. 169. – P. 11–20.
133. Jorgenson J.W., Lukacs K.D. Zone Electrophoresis in Open-Tubular Glass Capillaries // *Analytical Chemistry*. – 1981. – V. 53. – P. 1298–1302.
134. Lauer H.H., Rozing G.P. High Performance Capillary Electrophoresis / Lauer H. H., Rozing G. P. Germany: Agilent Technologies. – 2010.
135. Burgreen D., Nakache F.R. Electrokinetic flow in ultrafine capillary slits // *Journal of Physical Chemistry*. – 1964. – V. 68. – P. 1084–1091.
136. Rice C.L., Whitehead R. Electrokinetic flow in narrow cylindrical capillaries // *Journal of Physical Chemistry*. – 1965. – V. 69. – P. 4017–4023.
137. Kang Y.J., Yang C., Huang X.Y. Dynamic aspects of electroosmotic flow in a cylindrical microcapillary // *International Journal of Engineering Science*. – 2002. – V. 40. – P. 2203–2221.
138. Kang Y.J., Yang C., Huang X.Y. Electroosmotic flow in a capillary annulus with high zeta potentials // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2002. – V. 253. – P. 285–294.
139. Hsu J.P., Kao C.Y., Tseng S., Chen C.J. Electrokinetic flow through an elliptical microchannel: effect of aspect ratio and electrical boundary condition // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2002. – V. 248. – P. 176–184.
140. Yang C., Li D. Electrokinetic effects on pressure-driven liquid flows in rectangular microchannels // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 1997. – V. 194. – P. 95–107.
141. Patankar N.A., Hu H.H. Numerical simulation of electroosmotic flow // *Analytical Chemistry*. – 1998 – V. 70. – P. 1870–1881.
142. Бёккер Ю. Хроматография. Инструментальная аналитика: методы хроматографии и капиллярного электрофореза / Бёккер Ю. Техносфера: Москва. – 2009.
143. Энгельгардт Х. Руководство по капиллярному электрофорезу./Энгельгардт Х. Научный совет Российской академии наук по хроматографии: Москва – 1996.
144. Martin A.J.P., Synge R.L.M. A new form of chromatography employing two liquid phases // *Biochemical Journal*. – 1941. – V. 35. – P. 1358–1368.
145. Muzenda E. Analysis of Chromatographic Theories and thermodynamics Calculation Procedure / Muzenda E // *International Conference on Nanotechnology and Chemical Engineering (ICNCS'2012)*. – Bangkok (Thailand), 2012.
146. Gas B., Stedry M., Kenndler E. Peak broadening in capillary zone electrophoresis.//*Electrophoresis*. - 1997. – V.18. – P.2123-2133.
147. Xuan X. C. Joule heating in electrokinetic flow // *Electrophoresis*. – 2008. – V. 29. – P. 33–43.

148. Xuan X., Xu B., Sinton D., Li D. Electroosmotic flow with Joule heating effects // *Lab on a Chip*. – 2004. – V. 4. – P. 230–236.
149. Hjerten S. Zone broadening in electrophoresis with special reference to high-performance electrophoresis in capillaries: An interplay between theory and practice // *Chromatographic Reviews*. – 1967. – V. 9. – P. 122–219.
150. Hjerten S. High-performance electrophoresis. Elimination of electroendosmosis and solute adsorption // *Journal of Chromatography*. – 1985. – V. 347 – P. 191–198.
151. *Handbook of Capillary Electrophoresis* // Nelson R.J., Burgi D.S. Landers J.P. – CRC Press.: Boca Raton, 1994. – P. 562.
152. Porras S.P., Marziali E., Gaš B., Kenndler E. Influence of solvent on temperature and thermal peak broadening in capillary zone electrophoresis // *Electrophoresis*. – 2003. – V. 24. – P. 1553–1564.
153. Xuan X., Li D. Joule heating effects on peak broadening in capillary zone electrophoresis // *Journal of Micromechanics and Microengineering*. – 2004. – V. 14. – P. 1171–1180.
154. Knox J.H., McCormack K.A. Temperature effects in capillary electrophoresis. 1. Internal capillary temperature and effect upon performance // *Chromatographia*. – 1994. – V. 38. – P. 207–214.
155. Ikuta N., Yamada Y., Hirokawa T. Electropherogram of capillary zone electrophoresis with effective mobility axis as a transverse axis and its analytical utility I. Transformation applying the hypothetical electroosmotic flow // *Electrophoresis*. – 2000. – V. 21. – P. 360–366.
156. Xu X., Kok W., Poppe H. Noise and baseline disturbances in indirect UV detection in capillary electrophoresis // *Journal of Chromatography A*. – 1997. – V. 786. – P. 333–345.
157. Knox J. H., McCormack K. A. Volume expansion and loss of sample due to initial self-heating in capillary electroseparation (CES) systems // *Chromatographia*. – 1994. – V. 38. – P. 279–282.
158. McCormick R. M. Capillary Zone Electrophoretic Separation of Peptides and Proteins Using Low pH Buffers in Modified Silica Capillaries // *Analytical Chemistry*. – 1988. – V. 60. – P. 2322–2328.
159. Gobie W.A., Ivory C.F. Thermal model of capillary electrophoresis and a method for counteracting thermal band broadening // *Journal of Chromatography*. – 1990. – V. 516. – P. 191–210.
160. Vinther A., Soeberg H. Temperature elevations of the sample zone in free solution capillary electrophoresis under stacking conditions // *Journal of Chromatography*. – 1991. – V. 559. – P. 27–42.

161. Nelson R.J., Paulus A., Cohen A.S., Guttman A., Karger B.L. Use of Peltier thermoelectric devices to control column temperature in high-performance capillary electrophoresis // *Journal of Chromatography*. – 1989. – V. 480. – P. 111–127.
162. Cifuentes A., Kok W., Poppe H. Capillary electrophoresis using air and helium as cooling fluids // *Journal of Microcolumn Separations*. – 1995. – V. 7. – P. 365–374.
163. Rush R.S., Cohen A.S., Karger B.L. Influence of column temperature on the electrophoretic behavior of myoglobin and alpha-lactalbumin in high-performance capillary electrophoresis // *Analytical Chemistry*. – 1991. – V. 63. – P. 1346–1350.
164. Evenhuis C.J., Guijt R.M., Macka M., Marriott P. J., Haddad P. R. Temperature profiles and heat dissipation in capillary electrophoresis // *Analytical Chemistry*. – 2006. – V. 78. – P. 2684–2693.
165. Landers J.P. *Handbook of capillary electrophoresis* / Landers J. P. CRC Press.: Raton. – 1996.
166. Mori M., Hu W., Haddad P.R., Fritz J.S. et al. Capillary electrophoresis using high ionic strength background electrolytes containing zwitterionic and non-ionic surfactants and its application to direct determination of bromide and nitrate in seawater // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2002. – V. 372. – P. 181–186.
167. Knox J.H., McCormack K.A., Temperature effects in capillary electrophoresis. 2. Some theoretical calculations and predictions // *Chromatographia*. – 1994. – V. 38. – P. 215–221.
- 168 Grushka E., McCormick R.M., Kirkland J.J. Effect of temperature gradients on the efficiency of capillary zone electrophoresis separations // *Analytical Chemistry*. – 1989. – V. 61. – P. 241– 246.
169. Jones A.E., Grushka E. Nature of temperature gradient in capillary zone electrophoresis // *Journal of Chromatography*. – 1989 – V. 466. – P. 219–225.
170. Tang G.Y., Yang C., Chai J.C., Gong H.Q. Joule heating effect on electroosmotic flow and mass species transport in a microcapillary // *International Journal of Heat and Mass Transfer*. – 2004. – V. 47. – P. 215–227.
171. Evenhuis C.J., Haddad P.R. Joule heating effects and the experimental determination of temperature during CE // *Electrophoresis*. – 2009. – V. 30. – P. 897–909.
172. Schure M.R., Lenhoff A.M. Consequences of wall adsorption in capillary electrophoresis: theory and simulation // *Analytical Chemistry*. – 1993. – V. 65. – P. 3024–3037.
173. Gaš B., Štědrý M., Rizzi A., Kenndler E. Dynamics of peak dispersion in capillary zone electrophoresis including wall adsorption I. Theoretical model and results of simulation // *Electrophoresis*. – 1995. – V. 16. – P. 958–967.
174. Bello M.S., Zhukov M.Y., Righetti P.G. Combined effects of non-linear electrophoresis and non-linear chromatography on concentration profiles in capillary electrophoresis // *Journal of Chromatography A*. – 1995. – V. 693. – P. 113–130.

175. Ermakov S.V., Zhukov Y.M., Capelli L.P., Righetti G. Wall adsorption in capillary electrophoresis experimental study and computer simulation // *Journal of Chromatography A*. – 1995. – V. 699. – P. 297–313.
176. Xu X., Kok W.T., Poppe H. Change of pH in electrophoretic zones as a cause of peak deformation // *Journal of Chromatography A*. – 1996. – V. 742. – P. 211–227.
177. Gebauer P., Bocek P. Predicting Peak Symmetry in Capillary Zone Electrophoresis: The Concept of the Peak Shape Diagram // *Analytical Chemistry*. – 1997. – V. 69 – P. 1557–1563.
178. Poppe H. Overloading and interaction phenomena in electrophoretic separations // *Analytical Chemistry*. – 1992. – V. 64. – P. 1908–1919.
179. Ermakov S.V., Zhukov M.Y., Capelli L., Righetti P.G. Experimental and Theoretical Study of Artifactual Peak Splitting in Capillary Electrophoresis // *Analytical Chemistry*. – 1994. – V. 66. – P. 4034–4042.
180. Terabe S., Otsuka K., Ichikawa K., Tsuchiya A., Ando T. Electrokinetic separations with micellar solutions and open-tubular capillaries // *Analytical Chemistry*. – 1984. – V.56. – P. 111–113.
181. Terabe S. Electrokinetic chromatography: an interface between electrophoresis and chromatography // *Trends in Analytical Chemistry*. – 1989. – V. 8. – P. 129–134.
182. Pretorius V., Hopkins B.J., Schieke J.D. Electro-osmosis: A new concept for high-speed liquid chromatography // *Journal of Chromatography*. – 1974. – V. 99. – P. 23–30.
183. Knox J.H., Grant I.H. Miniaturisation in pressure and electroendosmotically driven liquid chromatography: Some theoretical considerations // *Chromatographia*. – 1987. – V. 24. – P. 135–143.
184. Knox J.H., Grant I.H. Electrochromatography in packed tubes using 1.5 to 50  $\mu\text{m}$  silica gels and ODS bonded silica gels // *Chromatographia*. – 1991. – V. 32. – P. 317–328.
185. Wu J., Pawliszyn J. Capillary isoelectric focusing with a universal concentration gradient imaging system using a charge-coupled photodiode array // *Analytical Chemistry*. – 1992. – V. 64. – P. 2934–2941.
186. Wu J., Watson A. Automated sample introduction for an imaged capillary isoelectric focusing instrument via high-performance liquid chromatography sampling devices // *Journal of Chromatography B*. – 1998. – V. 714. – P. 113–118.
187. Zuberovic A. Surface Modified Capillaries in Capillary Electrophoresis Coupled with Mass-spectrometry. Method development an exploration of the potential of capillary electrophoresis as a Proteomic Tool / Zuberovic A. *Acta universitatis upsaliensis.*: Uppsala. – 2009.
188. Takeuchi T. Development of capillary liquid chromatography // *Chromatography*. – 2005. – V. 26. – P. 7–10.

189. Zhu M., Rodriguez R., Hansen D., Wehr T. Capillary Electrophoresis of Proteins Under Alkaline Conditions // *Journal of Chromatography A.* – 1990. – V. 516. – P. 123–131.
190. Lee K.-J., Heo G.S. Free Solution Capillary Electrophoresis of Proteins Using Untreated Fused-Silica Capillaries // *Journal of Chromatography A.* – 1991. – V. 559. – P. 317–324.
191. Horvath J., Dolnik V. Polymer Wall Coatings for Capillary Electrophoresis // *Electrophoresis.* – 2001. – V. 22. – P. 644–655.
192. Rodriguez I., Li S.F.Y. Surface Deactivation in Protein and Peptide Analysis by Capillary Electrophoresis // *Analytica Chimica Acta.* – 1999. – V. 383. – P. 1–26.
193. Righetti P.G., Gelfi C., Sebastiano R., Citterio A. Surfing Silica Surfaces Superciliously // *Journal of Chromatography A.* – 2004. – V.1053. – P.15–26.
194. Lucy C.A., MacDonald A.M., Gulcev M.D. Non-Covalent Capillary Coatings for Protein Separations in Capillary Electrophoresis // *Journal of Chromatography A.* – 2008. – V. 1184. – P. 81–105.
195. Ding W., Fritz J.S. Separation of Basic Proteins and Peptides by Capillary Electrophoresis Using a Cationic Surfactant // *Journal of High Resolution Chromatography.* – 1997. – V. 20. – P. 575–580.
196. Righetti P.G., Gelfi C., Verzola B., Castelletti L. The State of the Art of Dynamic Coatings // *Electrophoresis.* – 2001. – V. 22. – P. 603–611.
197. Cao P., Moini M. Analysis of Peptides, Proteins, Protein Digests, and Whole Human Blood by Capillary Electrophoresis / Electrospray Ionization-Mass Spectrometry Using an in-Capillary Electrode Sheathless Interface // *Journal of American Society for Mass Spectrometry.* – 1998. – V. 9. – P. 1081–1088.
198. Moseley M.A., Jorgenson J.W., Shabanowitz J., Hunt D.F. et al. Optimization of Capillary Zone Electrophoresis / Electrospray Ionization Parameters for the Mass Spectrometry and Tandem Mass Spectrometry Analysis of Peptides // *Journal of American Society for Mass Spectrometry.* – 1992. – V. 3. – P. 289–300.
199. Córdova E., Gao J., Whitesides G.M. Noncovalent Polycationic Coatings for Capillaries in Capillary Electrophoresis of Proteins // *Analytical Chemistry.* – 1997. – V. 69. – P. 1370–1379.
200. Liu Q., Lin F., Hartwick R.A. Free Solution Capillary Electrophoretic Separation of Basic Proteins and Drugs Using Cationic Polymer Coated Capillaries // *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies.* – 1997. – V. 20. – P. 707–718.
201. Landers J.P. *Handbook of Capillary Electrophoresis*, Ed. 2nd ed./Landers J. P. CRC Press.: Raton. – 2000.
202. Guzman N.A. Capillary electrophoresis technology // *Chromatographic Science.* – 1993. – V. 64. – P. 860.



203. Burgi D.S., Giordano B.C. Online preconcentration for capillary electrophoresis // Burgi D.S. Giordano B.C. // *Handbook of Capillary and Microchip Electrophoresis and Associated Microtechniques*. CRC Press. 2008. – P. 413–427.
204. Chien R.L., Burgi D.S. Field-amplified sample injection in high performance capillary electrophoresis // *Journal of Chromatography*. – 1991. – V. 559. – P. 141–152.
205. Britz-McKibbin P., Chen D.D.Y. Selective focusing of catecholamines and weakly acidic compounds by capillary electrophoresis using a dynamic pH junction // *Analytical Chemistry*. – 2000. – V. 72. – P. 1242.
206. Reinhoud N.J., Tjaden U.R., van der Greef J. Automated isotachophoretic analyte focusing for capillary zone electrophoresis in, a single capillary using hydrodynamic back-pressure programming // *Journal of Chromatography*. – 1993. – V. 641. – P. 155–162.
207. Kok W.Th. Capillary electrophoresis: instrumentation and operation // *Chromatographia*. – 2000. – V. 51. – P.1–89.
208. Ewing A.G., Wallingford R.A., Olefirowicz T.M. Capillary electrophoresis // *Analytical Chemistry*. – 1989. – V. 61. – P. 292A–303A.
209. Hjertén S., Ellenbring K., Kilar F., Liao J.L., Chen A.J.C., Siebert C.J., Zhu M.D., Carrier-free zone electrophoresis, displacement electrophoresis and isoelectric focusing in a high-performance electrophoresis apparatus // *Journal of Chromatography*. – 1987. – V. 403. –P. 47–61.
210. Burton D.E., Sepaniak M.J., Maskarinec M.P. Analysis of B6 Vitamers by Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography with Laser-Excited Fluorescence Detection // *Journal of Chromatographic Science*. – 1986. – V. 24. – P. 347–351.
211. Gassmann E., Kuo J.E., Zare R.N. Electrokinetic Separation of Chiral Compounds // *Science*. – 1985. – V. 230. – P. 813–814.
212. Foret F., Deml M., Kahle Y., Bocek P. On-line fiber optic UV detection cell and conductivity cell for capillary zone electrophoresis // *Electrophoresis*. – 1986. – V. 7. – P. 430–432.
213. Huang X., Pang K.T., Gordon M.J., Zare R.N. On-column conductivity detector for capillary zone electrophoresis // *Analytical Chemistry*. – 1987. – V. 59. – P. 2747–2749.
214. Huang X., Zare R.N., Sloss S., Ewing A.G. End-column detection for capillary zone electrophoresis // *Analytical Chemistry*. – 1991. – V. 63. – P. 189–192.
215. Huang X., Zare R.N. Improved end-column conductivity detector for capillary zone electrophoresis // *Analytical Chemistry*. – 1991. – V. 63. – P. 2193–2196.
216. Bruins A.P. Mechanistic aspects of electrospray ionization // *Journal of Chromatography A*. – 1998. – 794. – P.345.

217. Smith R.D., Olivares J.A. Nguyen N.T., Udseth H.R. Capillary zone electrophoresis-mass spectrometry using an electrospray ionization interface // *Analytical Chemistry*. – 1998. – V. 60. – P. 436–441.
218. Bao J., Regnier F.E. Ultramicro enzyme assays in a capillary electrophoretic system // *Journal of Chromatography*. – 1992. – V. 608. – P. 217–224.
219. Regnier F.E., Patterson D.H., Harmon B.J. Electrophoretically-mediated microanalysis (EMMA) // *Trends in Analytical Chemistry*. – 1995. – V. 14. – P. 177–181.
220. Wu D. Regnier F.E. Native Protein Separations and Enzyme Microassays by Capillary Zone and Gel Electrophoresis // *Analytical Chemistry*. – 1993. – V. 65. – P. 2029–2035.
221. Avila L.Z., Whitesides G.M. Catalytic Activity of Native Enzymes during Capillary Electrophoresis: An Enzymatic Microreactor // *Journal of Organic Chemistry*. – 1993. – V. 58. – P. 5508–5512.
222. Xue Q., Yeung E.S. Variability of Intracellular Lactate Dehydrogenase Isoenzymes in Single Human Erythrocytes // *Analytical Chemistry*. – 1994. – V. 66. – P. 1175–1178.
223. Chang H.T., Yeung E.S. On-Column Digestion of Protein for Peptide Mapping by Capillary Zone Electrophoresis with Laser-Induced Native Fluorescence Detection. // *Analytical Chemistry*. – 1993. – V. 65. – P. 2947–2951.
224. Mechref Y., Rassi Z.E. Fused-silica capillaries with surface-bound dextran layer crosslinked with diepoxypolyethylene glycol for capillary electrophoresis of biological substances at reduced electroosmotic flow // *Electrophoresis*. – 1995. – V. 16. – P. 617–624.
225. Emmer A., Roeraade J. Capillary electrophoresis, combined with an on-line micro post-column enzyme assay // *Journal of Chromatography*. – 1994. – V. 662. – P. 375–381.
226. Perron M.J., Page M. Measurement of the enzymatic specificity of carboxypeptidase A by capillary zone electrophoresis // *Journal of Chromatography*. – 1994. – V. 662. – P. 383–388.
227. Licklider L., Kuhr W.G., Lacey M.P., Keough T., Purdon M.P., Takigiku R. On-Line Microreactors/Capillary Electrophoresis/Mass Spectrometry for the Analysis of Proteins and Peptides // *Analytical Chemistry*. – 1995. – V. 67. – P. 4170–4177.
228. Amankwa L.A., Kuhr W.G. Trypsin-modified-fused-silica capillary microreactor for peptide mapping by capillary zone electrophoresis // *Analytical Chemistry*. – 1992. – V. 64. – P. 1610–1613.
229. Patterson D.H., Harmon B.J., Regnier E.E. Electrophoretically mediated microanalysis of calcium // *Journal of Chromatography*. – 1994. – V. 662. – P. 389–395.

230. Harmon B.J., Patterson D.H., Regnier E.E. Mathematical treatment of electrophoretically mediated microanalysis // *Anal. Chem.* 1993. – V.65. – P.2655–2662.
231. Harmon B.J., Leesong I., Regnier E.E. Selectivity in Electrophoretically Mediated Microanalysis by Control of Product Detection Time // *Analytical Chemistry.* – 1994. – V. 66. – P. 3797–3805.
232. Cole L.J., Kennedy R.T. Selective preconcentration for capillary zone electrophoresis using protein G immunoaffinity capillary chromatography // *Electrophoresis.* – 1995. – V. 16. – P. 549–556.
233. Lada M.W., Schaller G., Kennedy R.T. On-line interface between microdialysis and capillary zone electrophoresis // *Analytica Chimica Acta.* – 1995. – V. 307. – P. 217–225.
234. Nashabeh W., El Rassi Z. Enzymophoresis of nucleic acids by tandem capillary enzyme reactor-capillary zone electrophoresis // *Journal of Chromatography.* – 1992. – V. 596. – P. 251–264.
235. Andreev V., Kamenev A.G., Popov N.S. Electroinjection analysis. The introduction of a new variant of flow-injection analysis and comparison with electrophoretically-mediated microanalysis // *Talanta.* – 1996. – V. 43. – P. 909–914.
236. Andreev V., Ilyina N., Lebedeva E., Kamenev A., Popov N. S. Electroinjection analysis Concept, mathematical model and applications // *Journal of Chromatography A.* – 1997. – V. 772. – P. 115–127.
237. Andreev V., Pliss N.S. Computer simulation of electroinjection analysis and electrophoretically mediated microanalysis Commensurable concentrations of sample and reagent // *Journal of Chromatography A.* – 1999. – V. 845. – P. 227– 236.
238. Andreev V., Makarova E., Pliss N.S. New Capability of Electroinjection Analysis: Investigation of Chemical Reaction Kinetics // *Analytical Chemistry.* – 2001. – V. 73. – P. 1316–1323.
239. Kaale E., Van Goidsenhoven E., Van Schepdael A., Roets E., Hoogmartens J. Electrophoretically mediated microanalysis of gentamicin with in-capillary derivatization and UV-detection // *Electrophoresis.* – 2001. – V. 22. – P. 2746–2754.
240. Kaale E., Van Schepdael A., Roets E., Hoogmartens J. Determination of kanamycin by electrophoretically mediated microanalysis with in-capillary derivatization and UV detection // *Electrophoresis.* – 2003. – V. 24. – P. 1119–1125.
241. Kang S.H., Wei W., Yeung E.S. On-column derivatization for the analysis of homocysteine and other thiols by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection // *Journal of Chromatography B.* – 2000. – V. 744. – P. 149–156.

242. Oguri S., Watanabe S., Abe S. Determination of histamine and some other amines by highperformance capillary electrophoresis with on-line mode in-capillary derivatization // *Journal Chromatography A.* – 1997. – V. 790. – P. 177–183.
243. Patterson D.H., Harmon B.J., Regnier F.E. Dynamic modeling of electrophoretically mediated microanalysis // *Journal of Chromatography A.* – 1996. – V. 732. – P. 119–132.
244. Van Dyck S., Kaale E., Nováková S., Glatz Z., Hoogmartens J., Van Schepdael A. Advances in capillary electrophoretically mediated microanalysis // *Electrophoresis.* – 2003. – V. 24. – P. 3868–3878.
245. Xue Q., Yeung E.S. Differences in the chemical reactivity of individual molecules of an enzyme // *Nature.* – 1995. – V. 373. – P. 681–683.
246. Harmon B.J., Leesong I., Regnier F.E. Moving boundary electrophoretically mediated microanalysis // *Journal of Chromatography A.* – 1996. – V. 726. – P. 193–204.
247. Fujima J.M., Danielson N.D. On-line lactate dehydrogenase substrate and activity determinations by capillary electrophoresis // *Journal of Capillary Electrophoresis.* – 1996. – V. 6. – P. 281–285.
248. Yang W.C., Yu A.M., Chen H.Y. Studies on an On-line Reaction of Micro Lactate Dehydrogenase in Capillary Electrophoresis Using Electrochemical Detection // *Chemical Journal of Chinese Universities.* – 2001. – V. 22. – P. 547–551.
249. Regehr M.F., Regnier F.E. Chemiluminescent detection for capillary electrophoresis and EMMA enzyme assays // *Journal of Capillary Electrophoresis.* – 1996. – V. 3. – P. 117–124.
250. Jin Z., Chen R., Colon L.A. Determination of Glucose in Submicroliter Samples by CE–LIF Using Precolumn or On-Column Enzymatic Reactions // *Analytical Chemistry.* – 1997. – V. 69. – P. 1326–1331.
251. Fujima, J.M., Danielson, N.D. Determination of creatine kinase activity and phosphocreatine in off-line and on-line modes with capillary electrophoresis // *Analytica Chimica Acta.* – 1998. – V. 375. – P. 233–241.
252. Taga A., Sugimura M., Suzuki S., Honda S. Estimation of sialic acid in a sialoglycan and a sialoglycoprotein by capillary electrophoresis with in-capillary sialidase digestion // *Journal of Chromatography A.* – 2002. – V. 954. – P. 259–266.
253. Whisnant A.R., Johnston S.E., Gilman S.D. Capillary electrophoretic analysis of alkaline phosphatase inhibition by theophylline // *Electrophoresis.* – 2000. – V. 21. – P. 1341–1348.
254. Whisnant A.R., Gilman S.D. Studies of reversible inhibition, irreversible inhibition, and activation of alkaline phosphatase by capillary electrophoresis // *Analytical Biochemistry.* – 2002. – V. 307. – P. 226–234.

255. Kitazumia I., Nakashima Y., Himeno S. Simultaneous electrophoretic determination of vanadium(V) and vanadium(IV) based on the complex formation with a Mo(VI)–P(V) reagent // *Journal of Chromatography A*. – 2001. – V. 939. – P. 123–129.
256. Xu Y., Liu X., Ip M.P. C. Michaelis-Menten Analysis of Alkaline Phosphatase by Capillary Electrophoresis Using Plug-Plug Reaction // *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*. – 1998. – V. 21. – P. 2781–2797.
257. Saevels J., Van Schepdael A., Hoogmartens J. Determination of the kinetic parameters of adenosine deaminase by electrophoretically mediated microanalysis // *Electrophoresis*. – 1996. – V. 17. – P. 1222–1227.
258. Saevels J., Van den Steen K., Van Schepdael A., Hoogmartens J. Study of the competitive inhibition of adenosine deaminase by erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl)adenine using capillary zone electrophoresis // *Journal of Chromatography A*. – 1996. – V. 745. – P. 293–298.
259. Saevels J., Huygens, K., Van Schepdael, A., Hoogmartens, J. In-Line Coupling of the Enzymatic Degradation of Oligonucleotides with Capillary Polymer Sieving Electrophoresis // *Analytical Chemistry*. – 1997. – V. 69. – P. 3299–3303.
260. Saevels J., Van Schepdael A., Hoogmartens J. Phosphodiesterase susceptibility of modified oligonucleotides studied in an integrated capillary electrophoresis system // *Journal of Capillary Electrophoresis*. – 1997. – V. 4. – P. 167–172.
261. Zhao D.S., Gomez F.A. Enzyme-Catalyzed Microreactions Using Capillary Electrophoresis: A Quantitative Study // *Chromatographia*. – 1997. – V. 44. – P. 514–520.
262. Kwak E.S., Esquivel S., Gomez F.A. Optimization of capillary electrophoresis conditions for in-capillary enzyme-catalyzed microreactions // *Analitica Chimica Acta*. – 1999. – V. 397. – P. 183–190.
263. Zhao, D.S., Gomez, F.A. Double enzyme-catalyzed microreactors using capillary electrophoresis // *Electrophoresis*. – 1998. – V. 19. – P. 420–426.
264. Watanabe T., Yamamoto A., Nagai S., Terabe S. Simultaneous measurement of  $\alpha$ -amylase and glucoamylase activities in sake rice koji by capillary electrophoresis of sodium dodecyl sulfate-protein complexes and activity measurement of glucoamylase by in-capillary enzyme reaction method // *Electrophoresis*. – 1998. – V. 19. – P. 2331–2337.
265. Zhang Y. El-Maghrabi M.R., Gomez F.A. Use of capillary electrophoresis and indirect detection to quantitate in-capillary enzyme-catalyzed microreactions // *Analyst*. – 2000. – V. 125. – P. 685–688.
266. Van Dyck S., Van Schepdael A., Hoogmartens J. Michaelis-Menten analysis of bovine plasma amine oxidase by capillary electrophoresis using electrophoretically mediated microanalysis in a partially filled capillary // *Electrophoresis*. – 2001. – V. 22. – P. 1436–1442.

267. Van Dyck S., Van Schepdael A., Hoogmartens J. Kinetic study of - glutamyltransferase activity by electrophoretically mediated microanalysis combined with micellar electrokinetic capillary chromatography // *Electrophoresis*. – 2002. – V. 23. – P. 2854–2859.
268. Van Dyck S., Van Schepdael A., Hoogmartens J. Off-line and in-line determination of catecholO-methyltransferase activity in a capillary electrophoretic system // *Electrophoresis*. – 2002. – V. 23. – P. 2854–2859.
269. Nováková S., Glatz Z. Determination of the kinetic parameters of rhodanese by electrophoretically mediated microanalysis in a partially filled capillary // *Electrophoresis*. – 2002. – V. 23. – P. 1063–1069.
270. Nováková S., Telnarová M., Glatz Z. Inhibition study of rhodanese by means of electrophoretically mediated microanalysis // *Journal of Chromatography A*. – 2003. – V. 990. – P. 189–195.
271. Kanie Y., Kanie O. Electrophoretically mediated microscale reaction of glycosidases: kinetic analysis of some glycosidases at the nanoliter scale // *Carbohydrate Researches*. – 2002. – V. 337. – P. 1757–1762.
272. Kanie Y., Kanie O. Electrophoretically mediated reaction of glycosidases at a nanoliter scale // *Electrophoresis*. – 2003. – V. 24. – P. 1111–1118.
273. Okamoto H., Nakajima T., Ito Y. Simultaneous determination of water-soluble vitamins in a vitaminenriched drink by an in-capillary enzyme reaction method // *Journal of Chromatography A*. – 2003. – V. 986. – P. 153–161.
274. Oguri S., Fujiyoshi T., Miki Y. In-capillary Derivatizat ion With 1 - Methoxycarbonylindolizine-3,5-dicarbaldehyde for High-performance Capillary Electrophoresis // *Analyst*. – 1996. – V. 121. – P. 1683–1688.
275. Miller K.J., Leesong I., Bao J., Regnier F.E., Lytle F.E. Electrophoretically Mediated Microanalysis of Leucine Aminopeptidase in Complex Matrices Using Time-Resolved Laser- Induced Fluorescence Detection // *Analytical Chemistry*. – 1993. – V.65. – P. 267-3270.
276. Kaale E., Van Schepdael A., Roets E., Hoogmartens J. Determination of kanamycin by electrophoretically mediated microanalysis with in-capillary derivatization and UV detection // *Electrophoresis*. – 2003. – V. 24. – P. 1119–1125.
277. Ghan K.C., Janini G.M., Muschik G.M., Issaq H.J. Laser-induced fluorescence detection of 9- fluorenylmethyl chloroformate derivatized amino acids in capillary electrophoresis // *Journal of Chromatography A*. – 1993. – V. 653. – P. 93–97.
278. Lee I.H., Pinto D., Arriaga E.A., Zhang Z.R., Dovichi N.J. Picomolar Analysis of Proteins Using Electrophoretically Mediated Microanalysis and Capillary Electrophoresis with Laser-Induced Fluorescence Detection // *Analytical Chemistry*. – 1998. – V. 70. – P. 4546–4548.

279. Zhang Y., Gomez F.A. On-column derivatization and analysis of amino acids, peptides and alkylamines by anhydrides and using capillary electrophoresis // *Electrophoresis*. – 2000. – V. 21. – P. 3305–3310.
280. Oguri S., Yokoi K., Motohase Y. Determination of amino acids by high-performance capillary electrophoresis with on-line mode in-capillary derivatization // *Journal of Chromatography A*. – 1997. – V. 787. – P. 253–260.
281. Oguri S., Ohta Y., Suzuki C. Direct detection of endogenous histamine in rat peritoneal mast cells by in-capillary derivatization high-performance capillary electrophoresis // *Journal of Chromatography B*. – 1999. – V. 736. – P. 263–271.
282. Oguri S., Yoneya Y., Mizunuma M., Fujiki Y., Otsuka K., Terabe S. Selective Detection of Biogenic Amines Using Capillary Electrochromatography with an On-Column Derivatization Technique // *Analytical Chemistry*. – 2002. – V. 74. – P. 3463–3469.
283. Benito I., Marina M.L., Saz J.M., Diez-Masa J.C. Detection of bovine whey proteins by on-column derivatization capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence monitoring // *Journal of Chromatography A*. – 1999. – V. 841. – P. 105–114.
284. Taga A., Suzuki S., Honda S.J. Capillary electrophoretic analysis of carbohydrates derivatized by in-capillary condensation with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone // *Journal of Chromatography A*. – 2001. – V. 911. – P. 259–267.
285. Taga A., Sugimura M., Honda S. Derivatization of amino acids in a moving zone of o-phthalaldehyde in the middle of a capillary for amino acid analysis by capillary electrophoresis // *Journal of Chromatography A*. – 1998. – V. 802. – P. 243–248.
286. Reinhoud N.J. Bioanalytical capillary electrophoresis / Reinhoud N. J. Thesis.: Leiden (NL). – 1995.
287. Andreev V., Ilyina N., Lebedeva E., Kamenev A., Popov N.S. Electroinjection analysis: Concept, mathematical model and applications // *Journal of Chromatography A*. – 1997. – V. 772. – P. 115–127.
288. Andreev V., Pliss N.S. Computer simulation of electroinjection analysis and electrophoretically mediated microanalysis: Commensurable concentrations of sample and reagent // *Journal of Chromatography A*. – 1999. – V. 845. – P. 227–236.
289. Andreev V., Makarova E., Pliss N.S. New Capability of Electroinjection Analysis: Investigation of Chemical Reaction Kinetics // *Analytical Chemistry*. – 2001. – V. 73. – P. 1316–1323.
290. Hirao H., Kumar D., Chen H., Neumann R., Shaik S. The Electronic Structure of Reduced Phosphovanadomolybdates and the Implications on Their Use in Catalytic Oxidation Initiated by Electron Transfer // *Journal of Physical Chemistry C*. – 2007. – V. 21. – P. 111.

291. O'Donnell S.E., Pope M.T. Applications of vanadium-51 and phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy to the study of iso- and hetero-polyvanadates // *Journal of the Chemical Society*. – 1976. – V. 21. – P. 2290–2297.
292. Wennrich R., Mroczek A., Dittrich K., Werner G. Determination of nonmetals using ICP-AES-techniques // *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*. – 1995. – V. 352. –P. 461–469
293. Laborda F., De Loos-Vollebregt M.T.C. Coupling of HPLC and ICP-AES for speciation // *Spectrochimica Acta*. – 1991. – V. 46B. – V. 617. – P. 1089–1098.
294. Kirkland J.J., Glajch J.L., Farlee R.D. Synthesis and characterization of highly stable bonded phases for high-performance liquid chromatography column packings // *Analytical Chemistry*. – 1989. – V. 61. – P. 2–11.
295. Абрамов П.А. Полиоксометаллаты V, Nb, Ta. Новое направление в химии полиоксометаллатов // III Конференция молодых ученых по общей и неорганической химии, тезисы докладов. – Москва, 2013. – 2013. – С. 3–4.
296. Abramov P.A. Coordination-Induced Condensation of [Ta<sub>6</sub>O<sub>19</sub>]<sup>8-</sup>: Synthesis and Structure of [(C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>)Ru]<sub>2</sub>Ta<sub>6</sub>O<sub>19</sub>]<sup>4-</sup> and [(C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>)RuTa<sub>6</sub>O<sub>18</sub>]<sub>2</sub>(μ-O)]<sup>10-</sup> // *Inorganic Chemistry*. – 2014. – V. 53. – P. 12791–12798.
297. Haddad P.R., Robbards K. *Journal of chromatography library, Chromatography 6<sup>th</sup> edition*. – 2004. – V. 69. – P. 519–584.
298. Nakashima Y., Goto T., Kitazumi I., Himeno S., Capillary electrophoretic determination of phosphate based on the formation of a Keggin-type [PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>]<sup>3-</sup> complex // *Electrophoresis*. – 2001. – V. 22 – P. 3377–3381.