

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Сотниковой Юлии Сергеевны «**Приготовление и исследование хроматографических свойств монолитных колонок для ВЭЖХ с новыми неподвижными фазами на основе гетероциклических азотсодержащих соединений**», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Диссертационная работа Сотниковой Юлии Сергеевны посвящена приготовлению и исследованию новых неподвижных фаз для высокоэффективной жидкостной хроматографии, являющейся одним из основных методов анализа смесей веществ. В настоящее время большинство колонок для ВЭЖХ по-прежнему являются насадочными – заполненными частицами сорбента. Использование монолитных колонок, полученных на основе органических полимеров, является сравнительно новым направлением в хроматографии, и дает ряд преимуществ – возможность варьирования селективности, химическую устойчивость в широком диапазоне pH, высокую гидродинамическую проницаемость, отсутствие тепловых градиентов и т.д. Однако, в основном, монолитные колонки выполняются в капиллярном формате (до 0.5 мм), что существенно снижает их загрузочную емкость и не позволяет работать с примесями, что бывает существенно важно, особенно в анализе, например, фармацевтических препаратов. Поэтому получение монолитных колонок достаточно большого диаметра (2мм) с различными текстурными и хроматографическими характеристиками является, несомненно, **актуальной** задачей, которая успешно решается в представленной диссертационной работе. Важно отметить, что коммерчески доступной сейчас является единственная монолитная колонка с такими размерами фирмы Thermo, полученная на основе смеси стирола и дивинилбензола, и позволяющая разделять лишь большие макромолекулы.

Автором разработана единая методика синтеза и **впервые** приготовлены монолитные колонки для ВЭЖХ, в которых неподвижной фазой являлся пористый полимер на основе стирола, дивинилбензола и гетероциклического азотсодержащего мономера, в качестве которого выступали: 1-винилимидазол, 4-винилпиридин, 1-винил-2-пирролидон, 1-винил-1,2,4-триазол. Всего было получено 28 типов монолитных колонок и исследованы их химические, текстурные и хроматографические характеристики.

Кроме того, в данной работе **впервые** описан способ *in situ* изменения селективности монолитной хроматографической колонки с органическим сорбентом на основе стирола, дивинилбензола и 4-винилбензилхлорида, содержащим реакционноспособные хлорметильные группы. Для придания сорбенту новых свойств, проводили его модифицирование в колонке производными имидазола и пиридина (1-метилимидазолом, 2-метилимидазолом, 2-метилпиридином и 4-метилпиридином), в результате чего на поверхности сорбента образовались ионные пары из катионов имидазолия или пиридиния и анион-хлорида.

Диссертация изложена на 156 страницах, содержит 74 рисунка и 10 таблиц. Работа состоит из введения, 3 глав – обзора литературы, экспериментальной части и обсуждения результатов, заключения, выводов и списка литературы (367 наименований).

Во **введении** отмечается актуальность, сформулированы цель и задачи работы, отражены научная новизна, практическая значимость и изложены положения, выносимые на защиту.

В главе 1 представлен подробный литературный обзор, позволяющий оценить общее

развитие технологии монолитных колонок, что подтверждается наличием более 350 ссылок на публикации и книги.

В первой части литературного обзора описаны особенности монолитных и насадочных неподвижных фаз.

Во второй части рассмотрена классификация монолитных колонок по геометрической форме, химической природе матрицы и химической функциональности. Описаны сорбенты с различными свойствами: гидрофобные, гидрофильные, с заряженными группами, аффинные, хиральные и со смешанным механизмом удерживания. Рассмотрены способы оценки селективности хроматографических колонок.

В третьей части изложены основные способы приготовления монолитных материалов. На примере свободнорадикальной полимеризации рассмотрены факторы, влияющие на свойства монолитных материалов: температура и время реакции, природа и концентрация сшивающего агента, порообразующего растворителя и инициатора.

В четвертой части кратко изложены способы модификации монолитных сорбентов с целью получения материалов с различной селективностью. Представлено заключение литературного обзора, в котором поясняются поставленные задачи диссертационной работы и объекты исследования.

2 глава содержит описание всех проведенных экспериментов:

- методики получения монолитных органических колонок на основе сополимера стирола, дивинилбензола и функциональных мономеров (1-винилимидазол, 4-винилпиридин, 1-винил-2-пирролидон, 1-винил-1,2,4-триазол, 4-винилбензилхлорид) внутри стеклянной трубки с внутренним диаметром 2 мм методом свободнорадикальной термически иницируемой полимеризации. Описан состав полимеризационных смесей, в которых варьировали содержание функционального мономера, а на примере колонок с 1-винил-2-пирролидоном варьировали содержание дивинилбензола и природу порообразующего растворителя.
- методики функционализации монолитных колонок *in situ* на основе 4-винилбензилхлорида модифицирующими реагентами (производными пиридина и имидазола).
- методов физико-химической характеристики полученных колонок: сканирующая электронная микроскопия, низкотемпературная адсорбция азота, элементный CHN-анализ, хроматографические методы исследования.

Основные результаты работы представлены в 3 главе. При чтении главы прослеживается систематический подход, использованный Ю.С. Сотниковой для решения поставленных задач.

Все приготовленные 28 колонок были протестированы с точки зрения их **эффективности**. На основании полученных данных из дальнейших исследований были исключены 3 колонки, причем во всех трех в составе полимеризационной смеси нет стирола.

Проведена **оценка воспроизводимости** методики синтеза сорбентов. Было установлено, что стандартное отклонение фактора удерживания, рассчитанное для приготовленных в разное время 4-х колонок с одинаковым сорбентом, составляет не более 3-х %. Это говорит об удовлетворительной воспроизводимости методики.

Благодаря изменению количества сшивающего агента (дивинилбензола) в исходной смеси были получены монолитные колонки с **разнообразными текстурными**

характеристиками (размер пор и удельная площадь поверхности). Исследование текстурных характеристик приготовленных колонок проводили методами сканирующей электронной микроскопии и низкотемпературной адсорбции азота. На микрофотографиях всех монолитов наблюдается картина, типичная для классических пористых полимеров на основе дивинилбензола и стирола: монолит состоит из ассоциатов из глобул и транспортных пор. По данным низкотемпературной адсорбции азота удельная площадь поверхности, диаметр и объем пор приготовленных монолитных материалов варьируются в широких пределах. Благодаря такому разнообразию появляется возможность подобрать колонку для решения конкретной задачи разделения: использовать макропористый сорбент для разделения крупных макромолекул, или мезопористый сорбент для разделения малых молекул. Вместе с тем автор осознает, что к полученным данным нужно относиться с определенной осторожностью, поскольку измерение данных параметров проводили для сорбентов в сухом состоянии

Поэтому важно было исследовать сорбент в тех условиях, в которых работает хроматографическая колонка, и именно – погруженный в подвижную фазу. И в таком случае важной характеристикой, связанной с пористым пространством, является **загрузочная емкость колонок**. В работе показано, что для монолитных колонок наблюдается зависимость величины загрузки от состава подвижной фазы. Установлено, что при использовании элюента с большой долей ацетонитрила загрузочная емкость составляет около 100 мкг, а в элюенте с преобладающим содержанием воды – 20–40 мкг.

В работе проводились исследования основных хроматографических свойств приготовленных монолитных колонок: **механическая стабильность, гидродинамическая проницаемость, эффективность и селективность**.

Автором было установлено, что приготовленные колонки сохраняют механическую стабильность, и монолитный сорбент не деформируется под влиянием больших потоков элюента.

В работе показано, что коэффициент гидродинамической проницаемости монолитных колонок примерно на порядок выше по сравнению с коммерческими насадочными колонками (ProntoSIL 120-5-C18, Диасфер 250-СТ) аналогичных геометрических параметров с размером гранул 5 мкм. Это позволяет увеличивать скорость потока, тем самым, уменьшая время анализа.

На величину эффективности приготовленных колонок оказывает влияние содержание функционального гетероциклического мономера в полимеризационной смеси. Ряд приготовленных колонок имеют эффективность при оптимальной скорости потока сопоставимую по величине с коммерческой насадочной колонкой Диасфер 250-СТ (~40 мкм). При этом массоперенос на монолитных колонках происходит быстрее, чем на коммерческой, что позволяет увеличивать скорость потока для уменьшения времени анализа без существенной потери эффективности.

Хроматографическая селективность исследовалась по зависимости логарифма фактора удерживания от состава подвижной фазы и с использованием модели линейных отношений энергий сольватации. На приготовленных сорбентах в зависимости от состава подвижной фазы реализуется гидрофильный или обращенно-фазовый механизм удерживания. А в зависимости от типа функционального мономера можно в достаточно широких пределах варьировать селективность монолитных колонок.

Далее автор показал альтернативный способ приготовления колонок с различной селективностью, когда одна и та же исходная колонка на основе 4-винилбензилхлорида,

содержащая реакционноспособные хлорметильные группы, модифицируется *in situ* различными функциональными реагентами. В результате функционализации монолита, на его поверхности образуются ионные пары, состоящие из катиона имидазолия или пиридиния и хлорид-аниона. Были проведены исследования эффективности и загрузочной емкости колонок, построены зависимости логарифма фактора удерживания от состава элюента, согласно которым полученные колонки способны проявлять смешанный механизм удерживания.

В последней части **3 главы** представлены **примеры использования** приготовленных колонок для разделения различных смесей органических соединений. Было установлено, что колонки, приготовленные автором данной работы, позволяют разделять молекулы как малого размера, так и макромолекулы, в частности, белки. В то время как коммерческая колонка Thermo RP-3U способна разделять только крупные молекулы. В данном разделе представлены примеры разделений как тестовых смесей: (фенол, бензол, толуол) (триоксibenзол, дигидроксибензолы, фенол), смесь алкилбензолов и пиридина, смесь фенолов и диметилфталата, смесь нитросоединений, смесь хлорпроизводных фенола, смесь углеводов, смесь бензойных кислот, смесь нитроанилинов, так и реальных объектов: продуктов реакции синтеза нитроспиртов, лекарственных препаратов (пенталгин, каффетин, аскофен, цитрамон, аспирин, ацекардол), органических полимеров (смесь пропиленгликоля разной молекулярной массы), белков (смесь альбуминов и лизоцима, натуральное молоко). Очень важным представляется пример количественного определения примеси салициловой кислоты в лекарственных препаратах.

В **заключении** приведены основные результаты и выводы, в которых представлены закономерности, выявленные в ходе выполнения данной диссертационной работы. Выводы соответствуют положениям, выносимым на защиту.

Достоверность полученных результатов обеспечивается применением комплекса современных физико-химических методов исследования, многократным повторением экспериментов, тщательным анализом используемых методик и совпадением основных полученных результатов с данными других исследователей.

Однако к диссертации имеется несколько вопросов/замечаний:

Стр.16 – в таблице 1 в качестве неорганического монолита указан алюминий, может ли быть такое?

Стр.47 – в таблице 2 для всех разновидностей колонок есть колонка, полученная без добавления стиrolа, однако для 1-винилимидазольных колонок такой нет, в чем здесь причина?

Стр.48- здесь указаны окончательные условия синтеза (время, температура), однако не показано как они подбирались, на основании чего? Каковы критерии готовности колонки к работе?

Стр.57 – на рисунке 18г бензол и фенол поменялись местами по сравнению с рис.18а,б,в и это затрудняет восприятие.

Стр.72 – по результатам СНN-анализа выявились существенные различия в содержаниях функционального мономера в сорбенте от 5% для 1-винил-1,2,4-триазола до 40% для 4-винилпиридина. Есть ли предположения о причине такой разницы?

Стр.77 – на рисунке 77 через точки, которые расположены с большим разбросом, проведен линейный график, это не очень корректно.

Стр.84 и еще в нескольких местах – в тексте доля воды – от 0.05 до 0.6, а на рис. 39 – от 0.01, как мне кажется.

В разделе **Заключение** можно было бы выразить личное отношение к полученным колонкам – какая из них представляется соискателю наиболее удачной и/или универсальной, а так же для каких задач наилучшим образом подходят винилимидазольные, винилпиридиновые, винилпирролидоновые и триазольные колонки.

Приведенные замечания не снижают высокий уровень исследований, выполненных в рассматриваемой диссертации и, в большей степени, носят рекомендательный характер для продолжения исследовательской работы по этой актуальной и перспективной тематике.

Автором диссертации выполнен большой объем экспериментальной работы. Диссертация является законченной научно-исследовательской работой, по результатам которой опубликовано 8 статей, из которых 7 входят в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендуемых ВАК РФ. 6 публикаций из 8 входят в международные базы научного цитирования Web of Science и Scopus. Опубликовано 12 тезисов докладов на международных и российских конференциях. Автореферат и опубликованные работы правильно и полно отражают содержание диссертации.

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

Диссертация полностью соответствует всем требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 года, а ее автор **Сотникова Юлия Сергеевна** заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности **02.00.02 – аналитическая химия.**

Согласна на обработку персональных данных.

Кандидат химических наук
(специальность 02.00.02 – аналитическая химия)

Заведующая лабораторией микроанализа

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова
Сибирского отделения Российской академии наук

630090, Российская Федерация, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, д. 9
Тел. +7(383)330-6554
E-mail: tikhova@nioch.nsc.ru

15.01.2021г

Подпись В.Д. Тиховой ЗА
Ученый секретарь, к.х.н.



В.Д. Тихова

Р. А. Бредихин