

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата химических наук Попова Александра Сергеевича
на тему: «Новые неподвижные фазы на основе различных матриц
для гидрофильной хроматографии»
по специальности 02.00.02 – «Аналитическая химия»

Гидрофильная хроматография (ГИХ) привлекает большой интерес исследователей как альтернативный метод по отношению к обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ) при разделении высоко полярных и ионных соединений. Ключевую роль в ГИХ играет выбор неподвижной фазы. Природа неподвижной фазы существенно влияет на удерживание аналитов, т.к. формирование адсорбированного водного слоя у поверхности сорбента, необходимого для реализации режима гидрофильной хроматографии, зависит от конкретных функциональных групп стационарной фазы. Из-за сложности установления механизма удерживания в условиях гидрофильной хроматографии вопрос правильного выбора неподвижной фазы для решения конкретных задач наиболее важен и актуален. Однако, в настоящее время выбор коммерчески доступных неподвижных фаз для ГИХ ограничен и в основном это - сорбенты на основе силикагеля, обладающего небольшим диапазоном стабильности pH. Получение новых неподвижных фаз является ключевым моментом для расширения области применимости метода ГИХ. Перспективным подходом к получению гидрофильных неподвижных фаз является сочетание различных функциональных групп, что будет способствовать высокой селективности разделения соединений, обладающих различными свойствами. Таким образом, диссертационное исследование Попова Александра Сергеевича, посвященное изучению свойств неподвижных фаз на основе различных матриц и поиску структур гидрофильных функциональных слоев, обеспечивающих высокую эффективность и селективность сорбентов в режиме гидрофильной хроматографии по отношению к полярным веществам различных химических классов, является крайне **актуальной**.

Научная новизна. В диссертационной работе показано, что использование разветвленного полиэтиленimina для формирования полимерного функционального слоя в сочетании с 1,4-БДДГЭ в качестве спейсера способствует лучшей гидрофилизации и экранированию матрицы силикагеля по сравнению с другими изученными полимерами и спейсерами. Автором диссертации установлена и убедительно продемонстрирована нецелесообразность увеличения числа циклов модифицирования свыше двух при закреплении спейсера 1,4-БДДГЭ для получения сорбентов на основе силикагеля для гидрофильной хроматографии вследствие снижения эффективности.

Впервые показано применение диоксида титана, адсорбционно модифицированного полиэтиленимином с последующей сшивкой 1,4-БДДГЭ, в качестве сорбента для определения полярных веществ в гидрофильной хроматографии. Установлены условия модифицирования, обеспечивающие стабильное закрепление функционального слоя на поверхности матрицы, и условия разделения водорастворимых витаминов в режиме гидрофильной хроматографии.

Диссертантом проведена оценка влияния моно- и диглицидиловых эфиров в качестве модификаторов поверхности на хроматографические свойства неподвижных фаз на основе полистирол-дивинилбензола (ПС-ДВБ). Установлено, что дополнительное модифицирование поверхности глицидолом и 1,4-БДДГЭ приводит к значительному росту гидрофильности и эффективности в случае полярных аналитов.

Важным результатом является предложенный в диссертационной работе способ управления эффективностью неподвижных фаз на основе полистирол-дивинилбензола, модифицированного полиэтиленимином, за счет варьирования длины и структуры спейсера. Установлено, что сорбент, полученный в результате двух циклов модифицирования, обеспечивает лучшую эффективность в ГИХ.

Теоретическая и практическая значимость работы

Получены новые высокоэффективные сорбенты на основе различных матриц (силикагеля, диоксида титана и полистирол-дивинилбензола) для

гидрофильной хроматографии. Показано, что полученные неподвижные фазы не уступают по хроматографическим свойствам коммерчески доступным колонкам на основе силикагеля, а в ряде случаев превосходят их по селективности и эффективности и характеризуются стабильностью в широком диапазоне pH подвижных фаз; обеспечивают альтернативный порядок удерживания заряженных аналитов, что может быть востребовано при решении прикладных задач. Методом ГИХ показана применимость полученных сорбентов с лучшими характеристиками к анализу реальных объектов: витаминных комплексов, спортивного питания, энергетических напитков, меда, ликеро-водочных изделий.

Разработан подход для получения высокоэффективных сорбентов для гидрофильной хроматографии на основе полистирол-дивинилбензола с использованием для формирования функционального слоя двух циклов модифицирования 1,4-БДДГЭ в качестве спейсера в сочетании с дополнительной модификацией поверхности глицидолом или 1,4-БДДГЭ. Полученные сорбенты обеспечивают селективность одновременного разделения гидрофильных и гидрофобных аналитов, что существенно расширяет аналитические возможности применения полученных сорбентов.

Показано, что сорбенты на основе диоксида титана, адсорбционно модифицированного сшитым 1,4-БДДГЭ полиэтиленимином, проявляют иную селективность по отношению к витаминам по сравнению с аналогом на основе силикагеля и повышают экспрессность разделения модельной смеси витаминов, что позволяет их рассматривать потенциально эффективными сорбентами для гидрофильной хроматографии.

Структура диссертационной работы.

Диссертационная работа состоит из введения и 7-ми глав: литературного обзора, экспериментальной части, четырех глав обсуждения результатов, заключения и выводов, а также списка принятых сокращений и списка цитируемой литературы (235 ссылок). Работа представлена на 175 страницах, содержит 62 рисунка и 27 таблиц.

В обзоре литературы дается расширенная классификация современных сорбентов для гидрофильной хроматографии; отмечены основные

направления в области синтеза новых неподвижных фаз на основе силикагеля; рассматриваются сорбенты на основе альтернативных материалов (оксиды металлов, графитированная сажа, полимеры) и области их применения. В отдельном разделе представлены способы ковалентной модификации поверхности и возможные пути гидрофилизации сорбентов (покрытие полярным полимерным слоем, формирование гиперразветвленного функционального слоя и дистанцирование прививаемого функционального слоя от поверхности матрицы). Особое внимание уделяется рассмотрению подходов к изучению свойств и характеристике новых неподвижных фаз для ГИХ.

Тщательный анализ литературных данных позволил диссертанту выявить перспективность применения диоксида титана и сополимера стирола и дивинилбензола для получения новых неподвижных фаз для ГИХ. Эти сорбенты устойчивы в широком диапазоне pH, что обеспечит возможность перевода аналита в подходящую ионную форму для разделения, и показывают альтернативную силикагелю селективность разделения в ГИХ. Проблема высокой гидрофобности полимерного материала и возможного влияния матрицы может быть эффективно решена посредством формирования полимерного гидрофильного покрытия при ковалентной или адсорбционной модификации поверхности. Обоснован выбор подходов для изучения свойств и сравнения сорбентов как наиболее информативных и доступных: изучение результатов теста Танака для гидрофильных неподвижных фаз и сопоставления хроматографического поведения модельных смесей полярных веществ с различными свойствами (аминокислоты, углеводы и витамины группы В).

Для реализации поставленной задачи на первом этапе автору необходимо было выбрать модификатор, способный эффективно гидрофилизировать и функционализировать поверхность матрицы сорбента. С этой целью изучены свойства сорбентов, полученных путем ковалентного модифицирования матрицы моно- и диглицидиловыми эфирами. На основании результатов исследования хроматографических параметров новых диольных сорбентов аргументирован выбор 1,4-БДДГЭ как наиболее

перспективного синтона в качестве спейсера для дальнейших исследований. Полученный сорбент, модифицированный 1,4-БДДГЭ, продемонстрировал лучшую селективность и экспрессность при разделении смеси витаминов (7 мин) и аминокислот 6 (мин).

С целью создания более эффективной гидрофилизации поверхности и экранирования матрицы получены и изучены свойства сорбентов, ковалентно модифицированных полярными полимерами (поливинилпиридин, полиэтиленгликоль, линейный и разветвленный полиэтиленмин (ПЭИ)), в качестве спейсера использован выбранный ранее 1,4-БДДГЭ. Установлено, что полиэтиленмины обладают большей перспективностью для формирования гидрофильного функционального слоя. Разветвленный ПЭИ коммерчески более доступен, что позволило диссертанту предложить эффективный способ химического модифицирования сорбентов путем ковалентного закрепления ПЭИ с дополнительной гидрофилизацией поверхности глицидом.

Проанализировав результаты этого этапа экспериментальных исследований, диссертант приступил к исследованию свойств сорбентов на основе диоксида титана и полистрол-дивинилбензола. Синтезированы неподвижные фазы на основе TiO_2 путем покрытия частиц ПЭИ. Сшивание диглицидиловым эфиром 1,4-бутандиола адсорбционно закрепленного слоя ПЭИ позволило получить стабильный высокоэффективный сорбент на основе TiO_2 (анатаз). Выявлены способы управления селективностью и эффективностью варьированием количества сшивающего агента 1,4-БДДГЭ и ПЭИ. Полученный сорбент позволил экспрессно разделить модельную смесь шести витаминов (4 мин) с высокой эффективностью до 25000 тт/м, однако низкая эффективность по аминокислотам и углеводам ограничивает использование данного сорбента для ГИХ. При этом они могут оказаться перспективными для твердофазной экстракции.

Следующий этап исследований посвящен разработке новых неподвижных фаз для ГИХ на основе сополимера стирола и дивинилбензола (ПС-ДВБ) с использованием различных способов гидрофилизации. Важно отметить, что разработанный ранее подход получения полимерного

функционального слоя, а именно ковалентная модификация сорбента полиэтиленгликолем с дополнительной гидрофиллизацией глицидолом, показал перспективность и для создания гидрофильных сорбентов на основе ПС-ДВБ, однако невысокая эффективность при разделении полярных аналитов потребовала поиска новых решений: формирование гиперразветвленного функционального слоя и пространственного дистанцирования функционального слоя за счет увеличения числа слоев спейсера. В первом случае, получен сорбент на основе ПС-ДВБ с гиперразветвленным функциональным слоем, содержащим положительно заряженные четвертичные аммониевые группы в структуре и отрицательно заряженные сульфогруппы у поверхности матрицы. В условиях ГИХ достигнута высокая селективность разделения полярных аналитов (сахара, аминокислоты и водорастворимые витамины), но низкая эффективность по аминокислотам и витаминам (4000-11000 тт/м). Кроме того, дальнейшая модификация оказалась нецелесообразной, т.к. приводила к ухудшению характеристик сорбента.

Во втором случае, было показано, что длина и структура спейсера, используемого для пространственного удаления функционального слоя сорбентов на основе ПС-ДВБ, не влияют на селективность разделения и факторы удерживания полярных аналитов, при этом длина спейсера повлияла на рост эффективности (40000 тт/м для витаминов). Установлено, что сорбенты с двойным спейсером обладают наибольшей эффективностью, не уступающей коммерчески доступным неподвижным фазам на основе силикагеля; сорбент устойчив в широком диапазоне pH подвижной фазы. Важным результатом исследования является получение эффективного сорбента на основе ПС-ДВБ, обеспечивающего селективность одновременного разделения гидрофильных и гидрофобных аналитов благодаря сочетанию в структуре сорбента гидрофобной матрицы и гидрофильного поверхностного функционального слоя. Это существенно расширяет аналитические возможности применения полученных сорбентов.

Сильной стороной данного исследования является и его практическая направленность. Полученные сорбенты прекрасно зарекомендовали себя при анализе объектов со сложной матрицей: витаминсодержащие БАД, питьевое

спортивное питание, энергетические напитки, различные сорта меда, ликеро-водочные изделия.

Достоверность результатов

Достоверность полученных результатов обеспечивается тщательной характеристикой свойств новых сорбентов, полученных диссертантом, с использованием теста Танака и путем исследования хроматографических параметров удерживания мольных смесей полярных веществ с различными свойствами. Результаты диссертационного исследования опубликованы в высокорейтинговых международных и российских журналах (3 статьи) и доложены на представительных всероссийских и международных научных конференциях.

По работе возник ряд вопросов и замечаний:

1. Что можно сказать о стабильности получаемых ковалентных покрытий на силикагеле и адсорбционных полимерных покрытий на полистирол-дивинилбензоле?
2. В работе приводятся данные по воспроизводимости синтеза на примере только полимерной матрицы. Оценивалась ли воспроизводимость получения разработанных покрытий для сорбентов на основе других матриц?
3. В работе отсутствует информация о том, как контролировали степень модификации сорбента? Использовали ли другие методы, кроме элементного анализа?
4. Показано, что введение в структуру сорбента гидрофильного спейсера глицидола приводит к более сильному удерживанию и росту селективности разделения сахаров по сравнению с более гидрофобными спейсерами ДГЭ или 1,4-БДДГЭ. Какой механизм удерживания преобладает при разделении сахаров на сорбенте силикагель-глицидол?
5. По данным теста Танака установлено, что показатель влияния ионного обмена наиболее высокий (-1.0) для силикагеля, модифицированного резорцином, в то время как для более гидрофильных сорбентов, модифицированных глицидолом и диглицидиловым эфиром 1,4-

- бутандиола, он составляет 0.6-0.8. Как объяснить этот результат для сорбента, у которого отсутствует положительно заряженные аммониевые групп в структуре функционального слоя?
6. Как объяснить тот факт, что несмотря на увеличение параметров гидрофильности поверхности сорбентов на полимерной основе с двумя и тремя слоями спейсера, не удалось получить ожидаемого увеличения факторов удерживания и селективности разделения полярных аналитов?
 7. На стр.74: *из представленных на рис. 20 результатов теста Танака видно, что для всех сорбентов, кроме С-Б-ПВП, наблюдается увеличение гидрофильности поверхности по сравнению с матрицей (рис. 14).* Удобнее для сравнения, чтобы на одном рисунке были приведены данные и для матрицы без модификации.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация Попова А.С. является цельной и завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему, связанную с приоритетными направлениями и программами развития отечественной фундаментальной и прикладной науки с использованием современных концепций и экспериментальных методологий и содержит решение важной задачи, состоящей в изучении свойств различных матриц и поиске структур гидрофильных функциональных слоев, обеспечивающих высокую эффективность и селективность сорбентов в условиях гидрофильной хроматографии. По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, степени обоснованности положений и выводов диссертационная работа Попова Александра Сергеевича полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Содержание автореферата и опубликованных трудов диссертанта полностью соответствует содержанию диссертации.

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 02.00.02 – «Аналитическая химия» (по химическим наукам), а также

критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Попов Александр Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – «Аналитическая химия».

Официальный оппонент:

кандидат химических наук,

доцент кафедры органической химии

Института химии

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский Государственный Университет»

БЕССОНОВА Елена Андреевна

Е.А. Бессонова 18.02.2022

Контактные данные:

тел.: +7(921)3645836, e-mail: e.bessonova@spbu.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 02.00.02 – Аналитическая химия

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

Тел.: +7 921 364 58 36; e-mail: e.bessonova@spbu.ru

Подпись сотрудника

Личную подпись
Е.А. Бессонова
заверяю
И.О. начальника отдела кадров
И.И. Константинова
18.02.2022

Документ подготовлен
в порядке исполнения
трудовых обязанностей

удостоверяю:

Текст документа размещен
в открытом доступе
на сайте СПбГУ по адресу
<http://spbu.ru/science/expert.htm>