

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА
ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи



Горбовская Анастасия Владимировна

**НОВЫЕ МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НЕПОДВИЖНЫЕ ФАЗЫ С
ПРИВИТЫМИ ПОЛИМЕРНЫМИ СЛОЯМИ ДЛЯ
ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

Специальность – 1.4.2. Аналитическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени

кандидата химических наук

Научный руководитель:

к.х.н. Ужель А.С.

Москва - 2023

Оглавление

Список сокращений и условных обозначений	4
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Матрицы многофункциональных сорбентов.....	12
1.2. Типы многофункциональных сорбентов	17
1.2.1. ОФ ВЭЖХ/ГИХ	17
1.2.2. ОФ ВЭЖХ/ИОХ.....	25
1.2.3. ИОХ/ГИХ.....	28
1.2.4. ИОХ/ГИХ/ОФ ВЭЖХ.....	33
1.3. Способы гидрофилизации неподвижных фаз	41
1.3.1. Гидрофилизация единичных функциональных групп, закрепленных на поверхности матрицы.....	43
1.3.2. Гидрофилизация сложных ионообменных слоев	45
1.3.3. Дополнительное повышение степени гидрофилизации анионообменников.....	54
ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	59
2.1. Аппаратура.....	59
2.2. Реактивы и материалы.....	60
2.3. Синтез анионообменников.....	62
2.4. Оценка воспроизводимости синтеза.....	67
2.5. Заполнение колонок	68
2.6. Определение ёмкости анионообменников.....	68
2.7. Характеризация сорбентов методом термодесорбционной газовой хроматографии с МС-детектированием	69
2.8. Условия разделения тестовых аналитов в режимах ГИХ и ОФ ВЭЖХ	70
ГЛАВА 3. Результаты и их обсуждение.....	72
3.1. Сорбенты с привитыми полиэлектролитами.....	72
3.1.1. Исследование хроматографических свойств в режиме ИХ с подавлением.....	73
3.1.1.1. Влияние условий синтеза	73
3.1.1.2. Способы повышения степени гидрофилизации и экранирования	78
3.1.2. Исследование хроматографических свойств в режиме ГИХ.....	85
3.1.3. Исследование хроматографических свойств в режиме ОФ ВЭЖХ	97
3.2. Сорбенты с привитыми ПЭИ, кватернизованным глицидолом.....	100

3.2.1. Исследование хроматографических свойств в режиме ИХ с подавлением	100
3.2.1.1. Влияния условий синтеза: количества глицидола, температуры и времени синтеза.....	100
3.2.1.2. Влияние полимеризации глицидола при повышении рН реакционной среды	106
3.2.2. Исследование хроматографических свойств в режиме ГИХ.....	112
3.3. Влияние способа модифицирования матрицы на хроматографические свойства сорбентов.....	119
3.3.1. Выбор условий эпексидирования и дальнейшего модифицирования матрицы ...	119
3.3.2. Сорбенты с привитыми ПЭИ и полиэлектролитами	124
3.3.3. Сорбенты с привитым ПЭИ, кватернизованным глицидолом	132
ГЛАВА 4. Изучение стабильности хроматографических колонок	142
ГЛАВА 5. Анализ реальных объектов.....	145
5.1. Анализ вод	145
5.2. Анализ фармацевтического препарата.....	147
5.3. Анализ почвенных экстрактов	148
ГЛАВА 6. Сравнение с коммерчески доступными многофункциональными сорбентами	152
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	157
ВЫВОДЫ	159
Список литературы	161
Приложения	174

Список сокращений и условных обозначений

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
ОФ ВЭЖХ – обращенно-фазовая ВЭЖХ
ГИХ – гидрофильная хроматография
МС-детектирование – масс-спектрометрическое детектирование
ИОХ – ионообменная хроматография
ИХ – ионная хроматография
ПГУ – пористый графитированный углерод
ГМА – глицидилметакрилат
АГЭ – аллилглицидиловый эфир
ПС-ДВБ – полистирол-дивинилбензол
ЭВБ-ДВБ – этилвинилбензол-дивинилбензол
ПАУ – полициклические ароматические углеводороды
МОКП – металлоорганический координационный полимер
АТРР-полимеризация – радикальная полимеризация с переносом атома
НВП – N-винилпирролидон
УКТ – углеродные квантовые точки
ГМА-ДВБ — сополимер глицидилметакрилата и дивинилбензола
1,4-БДДГЭ – 1,4-бутандиолдиглицидиловый эфир
ДМАЭМА – 2-диметиламиноэтилметакрилат
ПВС – поливиниловый спирт
3-ГМФП – 3-[гидрокси(метил)фосфинил]пропионат

Условные обозначения буферных растворов

ААБ Аммонийно-ацетатный буферный раствор
АФБ Аммонийно-формиатный буферный раствор
ФБ Фосфатный буферный раствор

Условные обозначения аминов

МА	метиламин	МДЭА	метилдиэтанолламин
ДМА	диметиламин	ТЭА	триэтанолламин
ПЭИ	полиэтиленламин	МЭА	N-метилэтанолламин
ТМА	триметиламин	БДМАЭЭ	бис(2-диметиламиноэтил)эфир
ДМЭА	диметилэтанолламин		

Условные обозначения сахаров

Fru	Фруктоза	Suc	Сахароза	Ara	Арабиноза
Glu	Глюкоза	Mal	Мальтоза	Man	Манноза
Xyl	Ксилоза	Lac	Лактоза		
Rib	Рибоза	Raf	Раффиноза		

Условные обозначения водорастворимых витаминов

B ₁	Тиамин	B ₁₂	Цианокобаламин
B ₂	Рибофлавин	C	Аскорбиновая кислота
B ₆	Пиридоксин		

Условные обозначения аминокислот

Phe	Фенилаланин	Ala	Аланин
Met	Метионин	Ser	Серин
Pro	Пролин	Gly	Глицин
Val	Валин	Leu	Лейцин
Tyr	Тирозин	Ile	Изолейцин
Asn	Аспарагин	Asp	Аспарагиновая кислота
Gln	Глутамин	Glu	Глутаминовая кислота
Thr	Треонин		

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Хроматографическая колонка представляет собой незаменимый компонент хроматографической системы. Поскольку селективность и эффективность в значительной степени зависят от свойств неподвижной фазы, создание новых сорбентов имеет решающее значение для развития высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В последнее время всё большую популярность в области ВЭЖХ приобретают многофункциональные сорбенты. Классические неподвижные фазы идеально подходят для разделения анализов, обладающих сходными физико-химическими свойствами, например, фазы для обращенно-фазовой (ОФ ВЭЖХ) хроматографии — для гидрофобных соединений. В свою очередь многофункциональные сорбенты обеспечивают одновременные взаимодействия разных типов и могут демонстрировать лучшую селективность разделения сложных смесей веществ, значительно отличающихся по своим физико-химическим характеристикам. Многие из таких фаз подходят для работы в режимах гидрофильной хроматографии (ГИХ) и ОФ ВЭЖХ, а также для ионообменной хроматографии (ИОХ). Подавляющее большинство таких сорбентов получают на основе силикагеля, в результате чего они имеют ограниченный рабочий диапазон рН от 2 до 8, что делает невозможным их применение в наиболее популярном режиме для разделения неорганических и многих органических анионов — ионной хроматографии (ИХ) с подавлением фоновой электропроводности и кондуктометрическим детектированием. Замена силикагеля на устойчивые во всем диапазоне рН матрицы, например, на сополимер стирола и дивинилбензола (ПС-ДВБ) с высокой степенью сшивки, может существенно расширить возможности многофункциональных фаз, в том числе обеспечить их применение в варианте ИХ с подавлением и градиентным элюированием. Однако, для снижения нежелательных взаимодействий анализов с матрицей и повышения эффективности сорбентов необходимо повышать степень их гидрофилизации, а также экранировать поверхность матрицы высокогидрофильными ионообменными слоями.

Цель работы заключалась в разработке подходов к получению новых ковалентно привитых многофункциональных фаз на основе ПС-ДВБ, отличающихся повышенной гидрофильностью и подходящих для работы в режимах ГИХ, ОФ ВЭЖХ и ИОХ, в том числе для ИХ с подавлением.

Достижение данной цели предполагало решение следующих задач:

- Поиск способов гидрофилизации сорбентов в режиме ИХ с подавлением и в режиме ГИХ.
- Разработка методов закрепления и формирования полимерных функциональных слоев на поверхности полимерной матрицы.
- Оптимизация условий синтеза сорбентов для получения анионообменников с максимальной степенью гидрофилизации и экранирования матрицы.
- Изучение хроматографического поведения неорганических, в том числе сильнополярзуемых анионов, и анионов органических кислот, в том числе алкилфосфоновых и галогенуксусных кислот, на синтезированных неподвижных фазах в режиме ИХ с подавлением.
- Изучение хроматографического поведения аминокислот, сахаров, витаминов, азотистых оснований и нуклеозидов в режиме ГИХ.
- Изучение хроматографического поведения алкилбензолов в режиме ОФ ВЭЖХ.
- Оценка перспектив использования разработанных многофункциональных фаз для анализа реальных объектов в режимах ИОХ и ГИХ.
- Оценка эксплуатационных характеристик полученных сорбентов.

Научная новизна. Разработаны методы синтеза химически модифицированных многофункциональных фаз на основе ПС-ДВБ с полимерными функциональными слоями различной структуры.

Продемонстрирована перспективность использования подхода к модифицированию ПС-ДВБ путем окисления остаточных двойных связей на его поверхности для повышения гидрофилизации получаемых сорбентов в режимах ИХ, ГИХ и ОФ ВЭЖХ.

Показана возможность увеличения степени гидрофилизации и экранирования ковалентно привитых фаз на основе ПС-ДВБ за счёт полимеризации глицидола в щелочной среде в функциональном слое сорбента и на поверхности матрицы.

Получены высокогидрофильные ковалентно привитые сорбенты на основе ПС-ДВБ, обеспечивающие экспрессное и высокоэффективное определение гидрофобных, слабо гидратированных и сильнополярзуемых аналитов. Продемонстрирована возможность одновременного определения стандартных

неорганических анионов, оксогалогенидов, а также галогенуксусных или фосфоновых кислот в режиме ИХ с подавлением с использованием синтезированных фаз.

Разработаны многофункциональные сорбенты, позволяющие работать в трёх режимах хроматографии и проводить разделение до 21 аниона в режиме ИХ с подавлением, 7 алкилбензолов в режиме ОФ ВЭЖХ, а также 8 аминокислот, 6 витаминов, 8 сахаров и 10 азотистых оснований и нуклеозидов в режиме ГИХ.

Практическая значимость.

Сорбент на основе ацилированной матрицы с привитым полиамином, кватернизованным глицидолом, применен для определения бромида в морских водах на фоне высокого содержания хлорида и сульфата.

Показана применимость сорбента на основе эпоксицированной матрицы с привитым гидрофилизированным полиамином для экспрессного определения сильнополярizable иодида в фармацевтическом препарате.

Сорбенты на основе ацилированной матрицы с привитыми полиэлектролитами разной гидрофильности применены для экспрессного определения аминокислот и высокоселективного и высокоэффективного определения фосфоновых кислот в почвенных экстрактах.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Разработанные подходы к синтезу неподвижных фаз на основе ПС-ДВБ с ковалентно закрепленным полиэтиленимином (ПЭИ), кватернизованным глицидолом, а также с привитыми полиэлектролитами, сформированными *in situ* из диэпоксида и вторичного амина, позволяют получить многофункциональные сорбенты разной гидрофильности для работы в режимах ГИХ, ОФ ВЭЖХ и ИОХ, в том числе ИХ с подавлением.
2. Управление ёмкостью и селективностью сорбентов с привитыми полиэлектролитами и ПЭИ, кватернизованным глицидолом, возможно за счёт варьирования количества реагентов, температуры и продолжительности синтеза. Оптимизация условий синтеза позволяет повысить разделяющую способность фаз с привитыми полиэлектролитами по неорганическим и органическим анионам в режиме ИХ, аминокислотам, сахарам, нуклеозидам и азотистым основаниям в режиме ГИХ.

3. Полимеризация глицидола в функциональном слое сорбента с привитым ПЭИ в щелочной среде приводит к повышению степени экранирования матрицы в режимах ИХ и ГИХ и степени гидрофилизации сорбента в режиме ИХ и получению неподвижных фаз, позволяющих одновременно определять стандартные неорганические анионы, оксогалогениды, а также галогенуксусные или фосфоновые кислоты.

4. Способ модифицирования матрицы, заключающийся в окислении двойных связей на поверхности ПС-ДВБ, приводит к существенному повышению степени гидрофилизации и экранирования сорбентов по сравнению с классическими методами химического модифицирования и к изменению порядка элюирования оксогалогенидов относительно стандартных анионов и гидрофобных фенилаланина и метионина относительно других аминокислот.

5. Высокоёмкостный сорбент с привитым ПЭИ, кватернизованным глицидолом, позволяет определять бромид в морских водах без разбавления, а низкоёмкостный сорбент с привитыми полиэлектролитами обеспечивает селективное определение алкилфосфовых кислот в почвенных экстрактах.

Степень достоверности

Достоверность результатов обеспечена благодаря применению реагентов высокой степени чистоты, проведением анализа реальных объектов и использованием современного хроматографического оборудования. На момент проведения измерений все оборудование имело актуальное свидетельство о периодической проверке.

Соответствие паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.4.2 Аналитическая химия по областям исследований: методы химического анализа (химические, физико-химические, атомная и молекулярная спектроскопия, хроматография, рентгеновская спектроскопия, масс-спектрометрия, ядерно-физические методы и др.); анализ объектов окружающей среды; анализ пищевых продуктов; анализ лекарственных препаратов.

Апробация результатов исследования

Результаты работы были представлены на следующих симпозиумах, съездах и конференциях:

2020 год: 4-ая Всероссийская конференция "Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез" (Краснодар), Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2020» (Москва);

2021 год: Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2021» (Москва), 6-ая Всероссийская конференция «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (Краснодар);

2022 год: Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2022» (Москва), Международный симпозиум по хроматографии (Будапешт, Венгрия), 4-й Съезд аналитиков России (Москва), 9-й Всероссийский симпозиум и школа-конференция молодых ученых «Кинетика и динамика сорбционных процессов (Сочи);

2023 год: Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2023» (Москва), 51-й Международный симпозиум по ВЭЖХ (Дюссельдорф, Германия), Международная научная конференция «Интеграция современных физико-химических методов исследования в области науки и производства» (Ташкент, Узбекистан). Результаты также были представлены на внутренних докладах и научных семинарах лаборатории хроматографии кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Публикации. По материалам работы опубликовано 19 печатных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus, RSCI) и рекомендованных в диссертационном совете МГУ по специальности 1.4.2. Аналитическая химия, и 15 тезисов докладов на российских и международных конференциях.

Личный вклад автора

Результаты исследования получены лично автором или под его руководством. Личный вклад автора состоял в постановке задач исследования, поиске и систематизации данных литературы по теме работы, планировании, постановке и проведении экспериментов, обработке и интерпретации результатов, а также в подготовке результатов исследований к публикации. Помощь в получении и обработке данных при использовании масс-спектрометрических детекторов оказана д.х.н., доц. А.Н. Ставрианиди. Под руководством автора выполнена дипломная работа Попковой Е.К.

Структура и объем работы. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, 5 глав экспериментальной части, общих выводов и списка цитируемой литературы. Материал изложен на 188 страницах машинописного текста, содержит 71 рисунок, 51 таблицу и 10 приложений, в списке цитируемой литературы 135 наименования.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

На данный момент наиболее популярным режимом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) является обращенно-фазовая жидкостная хроматография (ОФ ВЭЖХ) [1]. В этом режиме чаще всего используют сорбенты с привитыми алкильными радикалами C_{18} , а среди взаимодействий между неподвижной фазой и аналитами доминируют гидрофобные. Вторичные гидрофильные взаимодействия между остаточными силанольными группами и аналитами считают нежелательными, так как могут приводить к размыванию пиков и потере эффективности. ОФ ВЭЖХ подходит для разделения гидрофобных соединений, но не для разделения полярных или заряженных аналитов. В режиме гидрофильной хроматографии (ГИХ) используют гидрофильные неподвижные фазы, а подвижная фаза содержит высокую долю органического растворителя (обычно 70–98% ацетонитрила, смешанного с буфером). Это обеспечивает приемлемое удерживание полярных и делает этот метод совместимым с масс-спектрометрическим детектированием (МС-детектирование). Однако он также имеет недостатки: низкую растворимость некоторых соединений в больших количествах органического растворителя, длительное время установления равновесия в колонке. Это приводит к длительному времени анализа и усложняет разработку методик. Кроме того, на форму пика, удерживание и разделение в режиме ГИХ критическое влияние оказывает доля растворителя в пробе. Ионообменная хроматография (ИОХ) позволяет разделять ионные соединения на основе различий в размерах и заряде, однако совместимость с МС-детектированием может быть затруднена из-за высокой концентрации электролита в подвижной фазе. В то же время так называемая «mixed-mode» хроматография, в которой используют многофункциональные сорбенты, позволяет разделять аналиты за счёт сочетания механизмов удерживания, характерных для классических методов. Обычно такие неподвижные фазы содержат по меньшей мере два лиганда с абсолютно разными функциональными группами, которые обеспечивают два или более типов взаимодействий между аналитами и сорбентом [2]. В результате, селективностью этих фаз можно управлять за счет выбора таких параметров подвижной фазы, как рН, ионная сила, процентное содержание органического растворителя. По сравнению с традиционными хроматографическими колонками, разработанными для одного режима, многофункциональные фазы имеют

более широкий диапазон применения и высокую селективность, в результате чего позволяют осуществлять одновременный анализ полярных и неполярных, заряженных и нейтральных, органических и неорганических соединений.

Неподвижная фаза в жидкостной хроматографии состоит из пористого твердофазного носителя (матрицы) и функциональных групп, закрепленных на его поверхности. Многофункциональные фазы в большинстве случаев имеют в функциональном слое несколько типов групп разной природы. Например, сорбенты, обеспечивающие гидрофильные взаимодействия, необходимые для работы в режиме ГИХ, часто содержат полярные амидные, четвертичные аммониевые группы или гидроксильные группы, тогда как фазы, подходящие для ОФ режима, имеют гидрофобные алкильные радикалы (C_8 , C_{18}) или ароматические группы. На фазах, содержащих слабые или сильные ионообменные группы (третичные аминогруппы, четвертичные аммониевые группы, карбоксильные или сульфо-группы), в удерживание аналитов вносят вклад электростатические взаимодействия, что обеспечивает возможность разделения аналитов в режиме ИОХ. В случае сорбентов на основе полимеров, диоксида циркония, углеродных материалов сама матрица может обеспечивать множество взаимодействий. Кроме того, от материала матрицы зависят такие свойства неподвижных фаз, как рабочие диапазоны рН и температуры, максимально возможная скорость потока, стабильность, фоновый сигнал, которые в свою очередь могут влиять на время анализа, эффективность разделения, пределы обнаружения и т.д.

1.1. Матрицы многофункциональных сорбентов

Такие параметры матрицы, как размер частиц, их химическая природа, размер пор, влияют на выбор способа модифицирования поверхности. Кроме того, важными характеристиками матрицы является механическая прочность, определяющая способность колонки выдерживать давление, а также химическая инертность и устойчивость к гидролизу, от которых зависит стабильность неподвижной фазы. В настоящее время в качестве матриц для создания сорбентов для ВЭЖХ используют силикагель, оксиды металлов (диоксид циркония, оксид алюминия), углеродные материалы и органические полимеры [2–5].

На данный момент силикагель является наиболее распространенным материалом для создания многофункциональных сорбентов. К его достоинствам

относят механическую прочность, отсутствие набухания и сжатия в органических растворителях, легко контролируемые структуру пор и удельную площадь поверхности, химическую и термическую стабильность [2,4]. Он обладает лучшими характеристиками массопереноса, поэтому неподвижные фазы на основе силикагеля характеризуются высокой эффективностью.

Основным недостатком силикагеля является его низкая химическая стабильность — фазы на его основе применимы в диапазоне рН от 2 до 8. В то же время, при использовании многофункциональных фаз на основе силикагеля, например, для анализа биологических образцов, может требоваться периодическая сильнокислая или сильнощелочная промывка (100 мМ кислоты или основания) для элюирования необратимо связанных матричных компонентов [6]. Кроме того, фазы на основе силикагеля нельзя использовать в современном варианте ИОХ — в режиме ионной хроматографии (ИХ) с подавлением фоновой электропроводности, позволяющем добиться существенно большей чувствительности, а также большей разделяющей способности за счет использования градиентного элюирования [3,7]. Низкая чувствительность ИОХ ограничивает область применения сорбентов на основе силикагеля образцами с высокой концентрацией анионов/катионов.

Для создания многофункциональных сорбентов, совместимых с элюентами в режиме ИХ с подавлением, необходимо использовать химически стабильные матрицы, например, оксиды металлов. Основным недостатком оксидов металлов при использовании в качестве матриц для сорбентов является химическая неоднородность их поверхности, которая покрыта множеством различных типов функциональных центров [8]. Эти центры могут взаимодействовать с растворенными веществами, что может привести к сильному уширению пиков или необратимой адсорбции некоторых аналитов, поэтому при создании фаз на их основе разработчики чаще всего экранируют эти центры с помощью полимерных покрытий. В настоящее время среди оксидов металлов наиболее популярной матрицей является диоксид циркония, характеризующийся также термической, механической и химической стабильностью в диапазоне рН от 1 до 14 [9].

Еще одной химически стабильной матрицей является пористый графитированный углерод (ПГУ), который стабилен в диапазоне рН от 0 до 14 и до 200°C [6]. Благодаря взаимодействиям между электронами анионов и π -электронным

облаком углерода, данный материал обладает собственной небольшой ёмкостью [6], однако также такая матрица достаточно гидрофобна [6]. В результате ионы удерживаются на ПГУ не только за счёт ионного обмена, поэтому необходимо его дополнительное химическое модифицирование для работы в режиме ИОХ. В то же время в подвижных фазах с высоким содержанием органических растворителей немодифицированный ПГУ проявляет лишь слабое удерживание полярных веществ, поэтому его необходимо модифицировать и для работы в ГИХ. В связи с высокой стоимостью и длительностью получения ПГУ интерес привлекают аналогичные, но более дешёвые материалы, например, диоксид циркония, покрытый углеродом [10]. “Химия” поверхности такой матрицы сопоставима с ПГУ, и она также обладает высокой механической прочностью и химической стабильностью.

Органические полимеры, широко используемые при создании фаз для ИХ, на данный момент довольно редко используют для синтеза многофункциональных фаз. Их получают путем сополимеризации метакрилатных (метилметакрилат, глицидилметакрилат, аллилметакрилат) или стирольных (стирол, этилвинилбензол) мономеров с сшивающими агентами (дивинилбензол, диметакрилат этиленгликоля).

Метакрилатные мономеры имеют несколько преимуществ по сравнению со стирольными [11]. Во-первых, все метакрилатные мономеры близки по реакционной способности, поэтому нет тенденции к предпочтительной реакции одного мономера по сравнению с другим, которая бы привела к получению гетерогенного материала. В случае стирольных мономеров п-дивинилбензол значительно более реакционноспособен, чем большинство стирольных мономеров. По этой причине в начале процесса полимеризации большая часть дивинилбензола имеет тенденцию накапливаться в центре частиц, создавая градиент сшивок. Сам по себе такой градиент не обязательно является проблемой, однако, в идеале степень сшивки должна быть минимальной в центре и максимальной по периметру частицы. Поскольку повышение степени сшивки снижает скорость диффузии аналитов, предпочтительно иметь худшую кинетику диффузии вблизи поверхности. Наиболее высокая степень сшивки в центре частицы может приводить к плохой форме пиков. Наличие мономеров с очень похожей кинетикой реакции значительно сводит к минимуму проблему градиента сшивок и, как следствие, проблемы с формой пика. Другим преимуществом метакрилатных мономеров является то, что длину сшивки

можно легко варьировать за счёт выбора подходящего сшивающего агента, в то время как единственным коммерчески доступным сшивающим агентом для стирольных мономеров является дивинилбензол. Дополнительным преимуществом метакрилатных мономеров является доступность реакционноспособного мономера с эпоксидной группой — глицидилметакрилата (ГМА). Вводимые с его помощью эпоксидные группы могут реагировать с гидроксильными, тиольными или аминогруппами в достаточно мягких условиях [2], а кроме того, их можно гидролизовать в кислой среде с целью повышения гидрофильности сорбента. Недостатком метакрилатных матриц является стабильность в диапазоне рН 1–12 [4], что ограничивает использование анионообменников на ее основе карбонатными элюентами. Однако, замена ГМА, содержащего сложноэфирную связь, на аллилглицидиловый эфир (АГЭ) с простой эфирной связью может позволить повысить стабильность сорбентов в щелочной среде [4,12].

Другими популярными матрицами в ИХ являются сополимеры стирола или этилвинилбензола с дивинилбензолом (ПС-ДВБ и ЭВБ-ДВБ). Они обладают такими преимуществами, как механическая и химическая стабильность, устойчивость во всем диапазоне рН, что делает их наиболее распространенными матрицами при создании анионообменников. За счет варьирования степени сшивки — содержания дивинилбензола — можно добиться изменения физических и химических свойств полимера. Известно, что при использовании ПС-ДВБ со степенью сшивки более 25%, степень набухания частиц обычно меньше 10% [11], а матрица со степенью сшивки 55% не набухает в органических растворителях [7]. Так что уже при использовании сорбентов со степенью сшивки более 25% можно работать со 100% органическими растворителями без нарушения хроматографической целостности упакованной колонки.

Тем не менее, при недостаточном экранировании поверхности таких матриц аналиты могут взаимодействовать с ароматической структурой матрицы. В результате, удерживание ионов может определяться не только ионообменными, но и специфическими взаимодействиями, такими как Ван-дер-Ваальсовы [13–15], адсорбционные, π - π , анион- π и другие [7]. Из-за неионообменных взаимодействий с матрицей удерживание поляризуемых (NO_2^- , Br^- , NO_3^- , ClO_3^-) и сильнополяризуемых

анионов (BF_4^- , I^- , SCN^- , ClO_4^-) значительно возрастает, а симметрия их пиков снижается.

Для подобных матриц разработано большое количество способов модифицирования поверхности. Например, сульфирование используют для создания анионообменников с электростатически закрепленными функциональными слоями [3]. Популярным методом является метод химического модифицирования, заключающийся в ацилировании уксусным ангидридом с последующим восстановительным аминированием метиламином (МА) или диметиламином (ДМА) [16]. Введенные таким образом вторичные или третичные аминогруппы могут быть как непосредственно кватернизованы, так и служить основой для последующего закрепления более сложных функциональных слоев. Однако, при таком модифицировании матрицы сложно ограничить процесс только поверхностью частиц и избежать образования функциональных групп в порах, что обычно не позволяет достичь высокой эффективности [3,17].

Альтернативным способом является модифицирование ПС-ДВБ или ЭВБ-ДВБ по двойным связям. Оно легко осуществимо благодаря наличию большого количества остаточных непрореагировавших двойных связей в частицах из-за высокой степени сшивки. Постулируется, что эти остаточные двойные связи возникают из-за того, что по мере того, как полимер формируется и становится все более жестким, многие из двойных связей просто не способны реагировать из-за стерических затруднений, что связано с сшивкой частиц в процессе полимеризации [11]. Кроме того, поскольку остаточные двойные связи расположены в основном на поверхности, а не в глубине частиц [18], образующиеся впоследствии ионообменные центры не образуются внутри частиц сорбента и не попадают в гидрофобное окружение, что помогает избежать недостатков классических способов химического модифицирования [4]. Одним из примеров такого модифицирования является клик-реакция с тиолами [19], преимуществами которой являются высокий выход и простота реализации.

Несмотря на большой выбор полимерных матриц, разнообразие способов их модифицирования, возможность регулирования их степени сшивки и устойчивость в широком диапазоне pH, данные матрицы редко используют как при создании многофункциональных сорбентов [2], так и при синтезе фаз для работы в ГИХ [20]. Это связано с их недостаточной селективностью по отношению к полярным

аналитам, а также с низкой эффективностью по сравнению с фазами на основе силикагеля. Тем не менее, современные способы модифицирования ПС-ДВБ или ЭВБ-ДВБ и закрепление на их поверхности сложных гидрофильных функциональных слоёв может обеспечить и повышение их эффективности, и возможность их использования в режиме ГИХ, что будет продемонстрировано в следующем разделе.

1.2. Типы многофункциональных сорбентов

Многофункциональные сорбенты можно классифицировать по разным признакам, например, по типам матриц или функциональных групп в структуре функционального слоя, типам взаимодействий, которые обеспечивает сорбент, или режимов ВЭЖХ, в которых он работает. В данной работе, как в большинстве обзоров [1,21–23], освещающих многофункциональные неподвижные фазы, приведена их классификация на основе режимов ВЭЖХ, в которых они работают: ОФ ВЭЖХ/ГИХ, ГИХ/ИОХ, ОФ ВЭЖХ/ИОХ, ОФ ВЭЖХ/ГИХ/ИОХ. Классификация таких сорбентов для ВЭЖХ по типу матриц нецелесообразна, поскольку подавляющее большинство фаз, описанных в литературе, получают на основе силикагеля. Тем не менее, в каждом разделе работы фазы будут описываться в порядке от сорбентов на основе силикагеля к фазам на матрицах, характеризующихся большей химической стабильностью.

1.2.1. ОФ ВЭЖХ/ГИХ

Многофункциональные сорбенты, работающие в режимах ОФ ВЭЖХ и ГИХ — одни из самых распространённых типов фаз в «mixed-mode» хроматографии. Авторы [24] получали неподвижную фазу на основе аминопропилсиликагеля путем реакции с образованием амидной связи между концевыми карбоксильными группами поли(L-молочной кислоты) и аминокетонами матрицы. В режиме ГИХ на полученной фазе возможно неполное разделение 7 азотистых оснований за 24 мин, а также 3 ксантинов за 12 мин с использованием подвижной фазы слабой элюирующей силы — смеси ацетонитрила и воды (95:5, об. %). В режиме ОФ ВЭЖХ продемонстрировано более экспрессное разделение смеси этих же ксантинов в обратном порядке — за 6 мин с использованием в качестве подвижной фазы смеси ацетонитрила и воды (1:99, об. %). Кроме того, в работе показано удерживание некоторых витаминов как в режиме ГИХ, так и в ОФ ВЭЖХ.

В исследовании [25] синтезировали многофункциональный сорбент на основе силикагеля, модифицированного тиольными группами, с помощью «тиол-еновой» клик-реакции с ионной жидкостью — L-лактатом 1-винил-3-октилимидазолия. Такая фаза подходила для разделения в режиме ГИХ смеси 5 азотистых оснований за 8 мин с использованием в качестве подвижной фазы смеси ацетонитрила и воды (88:12, об. %), а в ОФ ВЭЖХ — смеси урацила, бензола и 3 полициклических ароматических углеводов (ПАУ) за 13 мин, 4 анилинов за 5 мин, а также 3 позиционных изомеров за 6 мин (о-терфенил, м-терфенил и трифенилен). Авторы провели сравнение полученного сорбента и классической фазы C18 — новый сорбент обеспечивал более экспрессное и селективное разделение, а также возможность работы в режиме ГИХ.

В работе [26] описано получение многофункционального сорбента на основе силикагеля с привитыми карбоксильными группами путем послойного наращивания *in situ* на его поверхности металлоорганического координационного полимера (МОКП). Никель выступал в качестве металлического центра, а 2,5-дигидрокситерефталевая кислота — в качестве органического лиганда (рис. 1). В режиме ОФ ВЭЖХ достигнуто разделение до базовой линии в течение 5 мин трёх ароматических углеводов — бифенила, м-терфенила и бензофенона, а также смеси гидрофобных фенольных соединений за 5 мин: хинола, бисфенола S, бисфенола А и 4-трет-октилфенола. В режиме ГИХ удалось разделить до базовой линии смесь из 4 сульфаниламидов за 4 мин.

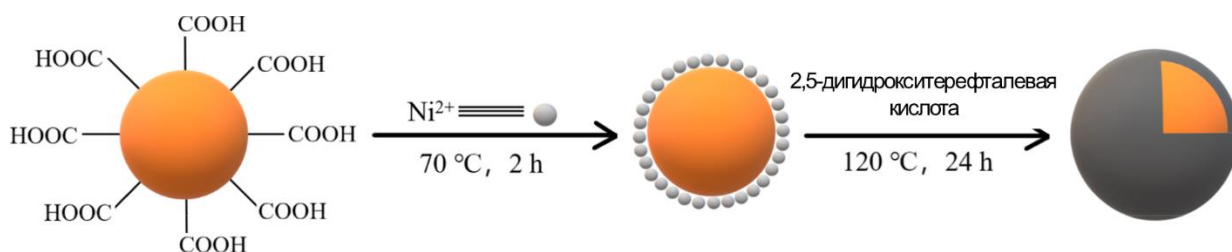


Рис. 1. Схема получения неподвижной фазы на основе силикагеля с МОКП, содержащим никель [26].

Авторы [27] покрывали силикагель МОКП, содержащим железо (III), полиэтиленгликоль и терефталевую кислоту. В режиме ГИХ полученный сорбент позволил разделить смеси 5 азотистых оснований за 8 мин, 6 аминокислот за 18 мин (рис. 2а), 7 сахаров за 18 мин (рис. 2б), 9 алкалоидов за 12 мин и 4 сульфаниламидов за 12 мин с эффективностью до 2700 тг/м, а в режиме ОФ ВЭЖХ — смеси 5

алкилбензолов за 18 мин (рис. 2в), 4 анилинов за 8 мин и 4 ПАУ за 9 мин с эффективностью до 4000 тт/м. Однако, для большинства пар аналитов разделение до базовой линии невозможно в виду низкой эффективности данной фазы и высокого размывания пиков.

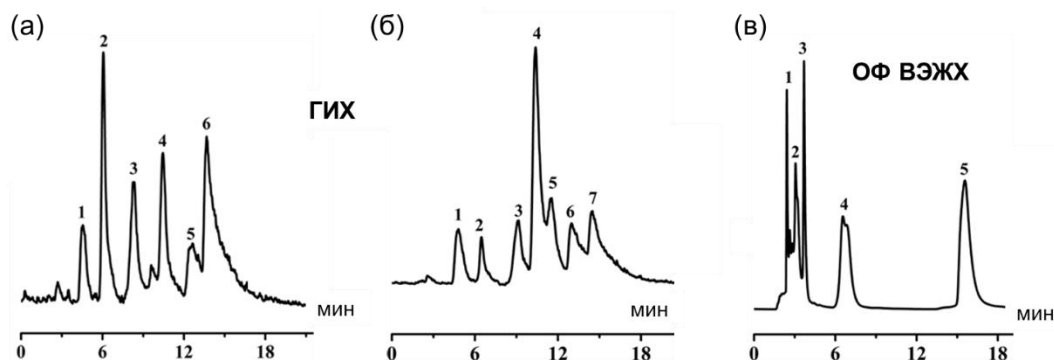


Рис. 2. Хроматограммы смесей аминокислот (а) и сахаров (б) в режиме ГИХ и алкилбензолов в режиме ОФ ВЭЖХ (в) на фазе с МОКП из работы [27]. Подвижная фаза: (а) ацетонитрил – 100 мМ аммонийно-ацетатный буферный раствор (ААБ) (70:30, об.%); (б) ацетонитрил – 100 мМ ААБ, градиентное элюирование; (в) ацетонитрил – вода (30:70, об.%), градиентное элюирование. Колонка: 150 × 4,6 мм. Скорость потока: 0,8 мл/мин. Детектирование по светорассеянию (а), (б) и УФ-детектирование при 254 нм (в). Аналиты: (а) 1 – L-цистеин, 2 – L-триптофан, 3 – L-изолейцин, 4 – L-серин, 5 – L-гистидин, 6 – DL-треонин; (б) 1 – L-рамноза, 2 – фукоза, 3 – манноза, 4 – сахароза, 5 – D-целлобиоза, 6 – мелецитоза, 7 – D-лактоза; (в) 1 – бензол, 2 – толуол, 3 – этилбензол, 4 – кумол, 5 – фенилпентан.

Статья [28] посвящена еще одному сорбенту с МОКП. Сначала аминопропилсиликагель модифицировали терефталевой кислотой, а затем на основе продукта получали МОКП — никель вновь выступал в качестве металлического центра, а органическим лигандом служил поливинилпирролидон. Полученный сорбент в режиме ГИХ обеспечивал разделение 6 нуклеозидов и азотистых оснований за 9 мин, 10 сахаров за 22 мин в режиме градиентного элюирования, 8 алкалоидов за 10 мин, 8 сульфаниламидов за 15 мин с эффективностью 7000 тт/м для сульфодиазина. В режиме ОФ ВЭЖХ сорбент позволил разделить смеси 5 алкилбензолов за 11 мин и 4 ПАУ за 12 мин с эффективностью 3000 тт/м для нафталина.

В работе [29] получали сорбент за счет прививки на аминопропилсиликагель гексафторфосфата норборнен имидазолия путем метатезисной полимеризации с раскрытием цикла. Далее проводили радикальную полимеризацию с переносом атома (АТРР-полимеризация) полученного продукта с олиго(этиленгликоль)метакрилатом. Синтезированная фаза в режиме ГИХ позволяла разделить 10 сахаров за 45 мин в

градиентном режиме элюирования, 4 аминокислоты за 20 мин, а в режиме ОФ ВЭЖХ — 6 алкилбензолов за 15 мин в градиентном режиме и 4 ПАУ за 10 мин.

Авторы [30] получали многофункциональный сорбент на основе силикагеля с привитым циклическим олигомером глюкозы — β -циклодекстрином. Для этого предварительно проводили реакцию β -циклодекстрина с пропаргиламином, а затем осуществляли клик-реакцию полученного продукта с силикагелем с привитой азидной группой. В режиме ГИХ в градиентном режиме элюирования такая фаза обеспечивала разделение 9 нуклеозидов и азотистых оснований за 14,5 мин и смеси фруктоолигосахаридов (полифруктоза) со степенью полимеризации от 2 до 12 за 19 мин. В режиме ОФ ВЭЖХ авторы не проводили разделение смесей, однако возможность использовать сорбент для разделения флавоноловых гликозидов показана для обоих режимов с помощью U-образной зависимости фактора удерживания аналитов от содержания ацетонитрила в подвижной фазе. Типичное для ОФ ВЭЖХ изменение удерживания наблюдали при доле органического растворителя ниже 30%. Также данный сорбент обладал хиральной селективностью и позволял разделить рацемическую смесь ибупрофена до базовой линии за 32 мин.

В работе [31] представлен простой метод получения многофункциональных сорбентов с помощью сополимеризации *in situ* длинноцепочечной ундециленовой кислоты и короткоцепочечного N-винилпирролидона (НВП) на поверхности силикагеля, причем авторы варьировали количество последнего. Продемонстрировано, что удерживание ПАУ в режиме ОФ ВЭЖХ возрастало с увеличением количества НВП в функциональном слое — на фазе с промежуточным количеством НВП удалось разделить до базовой линии смесь 7 ПАУ и бензола за 17 мин. В то же время удерживание алкилбензолов определялось гидрофобными взаимодействиями как с НВП, так и с фрагментами ундециленовой кислоты. На фазе с промежуточным количеством НВП в режиме ГИХ удалось разделить до базовой линии 8 нуклеозидов и азотистых оснований за 10 мин с использованием в качестве элюента смеси ацетонитрила и воды (85:15, об. %).

В работе [32] закрепляли на поверхности аминопропилсиликагеля углеродные квантовые точки (УКТ). Их предварительно получали из лимонной кислоты и октадеканамина путем сольвотермального синтеза, а затем проводили реакцию с получением амидной связи между карбоксильными группами на их поверхности и

аминогруппами матрицы. Такая фаза позволяла в режиме ОФ ВЭЖХ разделять смеси, 5 алкилбензолов за 7 мин, а также 7 ПАУ за 11 мин с эффективностью до 7600 тт/м. В сравнении с коммерческой колонкой Purospher STAR RP-18 («Merck», Германия) полученная фаза характеризовалась лучшей формой пиков и селективностью к ПАУ и кроме того, подходила для работы в режиме ГИХ — обеспечивала разделение в градиентном режиме 14 нуклеозидов и азотистых оснований за 23 мин и 9 сульфаниламидов за 14 мин.

В работе [33] получили два сорбента на основе аминопропилсиликагеля за счет ковалентного закрепления на его поверхности УКТ, полученных в одном случае из хлорида холина и молочной кислоты, а в другом дополнительно легированных фосфором. В режиме ГИХ фаза с фосфором позволила разделить смесь из 9 азотистых оснований за 10 мин в режиме ГИХ в качестве элюента (рис. 3а), однако, в сравнении с матрицей их удерживание, эффективность и селективность заметно снизились. В то же время этот сорбент по сравнению с аминопропилсиликагелем обеспечил более селективное разделение 7 алкалоидов за 5 мин. Более подробно он изучен в режиме ОФ ВЭЖХ на примере разделения алкилбензолов, ПАУ, анилинов, фенолов, сульфаниламидов и флавоноидов. Для большинства аналитов на фазе с УКТ, легированными фосфором, продемонстрировано более экспрессное и селективное разделение аналитов. Например, разделение смеси 12 ПАУ удалось достичь с прежней и даже лучшей селективностью по некоторым парам за в два раза меньшее время, чем для фазы без фосфора (рис. 3б).

Авторы [34] проводили модифицирование силикагеля (3-бромпропил)триметоксисиланом, а затем *in situ* сополимеризовали на его поверхности тетракис(4-этинилфенил)метан и 2,5-дибромтерефталевую кислоту. В режиме ГИХ полученная фаза позволила разделить смесь 4 гербицидов на основе фенилмочевины за 10 мин с использованием очень слабой подвижной фазы — смеси ацетонитрила и воды (99.5:0.5, об.), а также смесь 4 нуклеозидов и азотистых оснований за 14 мин с использованием смеси ацетонитрила и воды (87:13, об. %). Более широкий круг аналитов разделяли на ней в ОФ режиме — алкилбензолы, ПАУ, анилины, фенолы, сульфаниламиды. Например, фаза позволяла разделить смесь 4 ПАУ за 13 мин с использованием сильного элюента — смеси ацетонитрила и воды (98:2, об.). Авторы отметили, что за счет варьирования количества реагентов можно

контролировать удерживание ПАУ. Наибольшая разделяющая способность полученных фаз показана на примере разделения 5 нестероидных противовоспалительных препаратов за 20 мин.

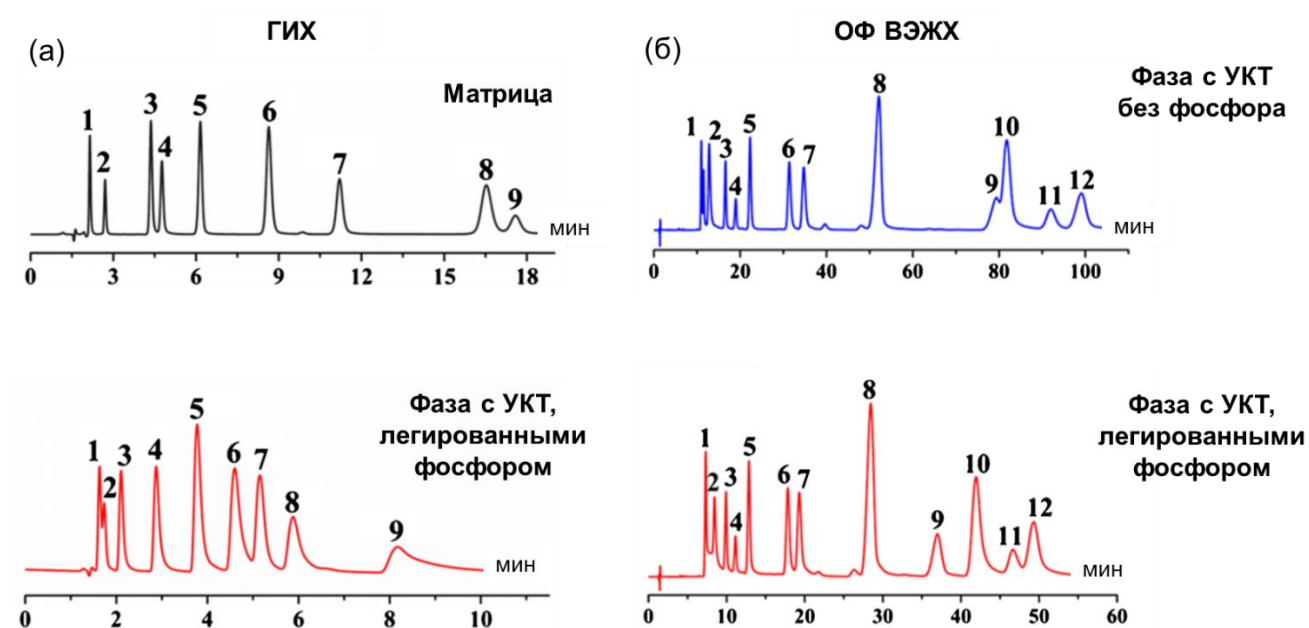


Рис. 3. Хроматограммы разделения смесей азотистых оснований и нуклеозидов в ГИХ (а) и ПАУ в ОФ ВЭЖХ (б) на аминопропилсиликагеле и фазах на его основе с УКТ без и с фосфором [33]. Подвижная фаза: (а) ацетонитрил – 20 мМ ААБ: (90:10, об. %) для матрицы и (95:5, об. %) для фазы с фосфором; (б) ацетонитрил – вода (22:78, об.%). Колонки: 150 × 4,6 мм. Скорость потока: 1,0 мл/мин. Температура колонки: 30°C. УФ-детектирование при 254 нм. Аналиты: (а) 1 – тимин, 2 – тимидин, 3 – уридин, 4 – аденозин, 5 – гипоксантин, 6 – цитозин, 7 – инозин, 8 – цитидин, 9 – гуанозин; (б) 1 – нафталин, 2 – антрон, 3 – 2-метилнафталин, 4 – аценафтен, 5 – флуорен, 6 – фенантрен, 7 – антрацен, 8 – пирен, 9 – о-терфенил, 10 – трифенилен, 11 – хризен, 12 – 1,2-бензоантрацен.

Как отмечалось в разделе 1.1., сама матрица может обеспечивать несколько типов взаимодействий. В статье [35] описано использование немодифицированного диоксида титана для разделения 15 нуклеотидов и их производных за 26 мин в режиме ГИХ. В ней также показана возможность его использования и в режиме ОФ ВЭЖХ, что говорит о многофункциональности диоксида титана.

В работе [36] авторы получали гибридную углеродную многофункциональную фазу на основе силикагеля за счет покрытия коммерческого силикагеля ядро-оболочка положительно заряженными коммерческими латексами с четвертичными аминогруппами, а затем отрицательно заряженными углеродными наночастицами с привитыми карбоксильными группами (рис. 4а). Такую фазу возможно использовать как в режиме ОФ ВЭЖХ, так и в ГИХ, что показано на примере разделения пары урацил/нафталин в обоих режимах (рис. 4б). Подробно она была исследована в

режиме ГИХ и позволяла разделять 6 ароматических кислот за 6 мин, 3 фенола за 3 мин, а за счет повышения скорости до 2 мл/мин возможно экспрессное элюирование 4 обезболивающих препаратов за 1,2 мин (рис. 4в).

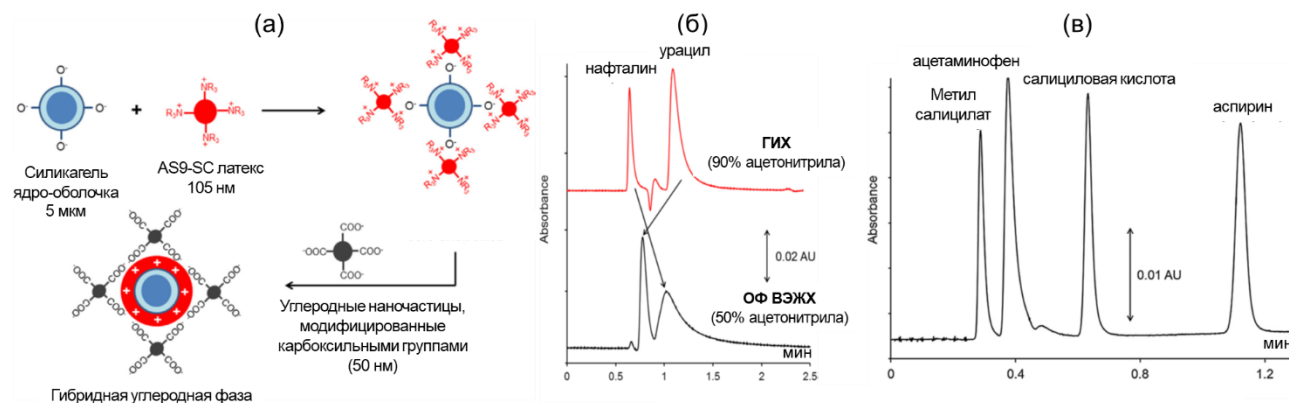


Рис. 4. Схема синтеза гибридной углеродной фазы на основе силикагеля (а), разделение урацила и нафталина на данной фазе в режимах ГИХ и ОФ ВЭЖХ (б), хроматограмма смеси обезболивающих лекарств (в) [36]. Подвижная фаза: (б) ацетонитрил – 10 мМ ААБ, рН 4.0; (в) ацетонитрил – 10 мМ ААБ, рН 6.1 (90:10, об.%). Колонка: 100 × 4 мм. Скорость потока: (б) 1 мл/мин; (в) 2 мл/мин. УФ-детектирование при 254 нм (б) и 240 нм (в).

Серия работ посвящена созданию многофункциональных фаз за счет прививки диазосмолы на поверхности различных матриц [37–39]. В статье [37] сорбент получали на основе сульфированного ПС-ДВБ, на поверхности которого электростатически закрепляли положительно заряженную диазосмолу, а затем эту связь делали ковалентной под воздействием УФ-излучения (рис. 5). В работе [39] получали аналогично сорбент на основе силикагеля, предварительно его активировав в щелочи, а в [38] — на основе сополимера дивинилбензола и ГМА (ГМА-ДВБ), поверхность которого активировали с помощью гидролиза эпокси-колец. Лучшей разделяющей способностью в режиме ОФ ВЭЖХ обладала фаза на ГМА-ДВБ: разделение смеси, состоящей из урацила, бензола, пропилбензола, нафталина и флуорена, удалось достигнуть за 25 мин с использованием в качестве подвижной фазы смеси ацетонитрила и воды (70:30, об. %). В режиме ГИХ сорбенты на основе силикагеля и ПС-ДВБ позволили разделить за 11 и 15 мин смесь 4 органических кислот (муравьиная, уксусная, молочная и бензойная). Кроме того, была показана применимость этих фаз к разделению фуллеренов C60 и C70.

В статье [40] описана возможность использования в режимах ГИХ и ОФ ВЭЖХ катионообменников на основе сульфированного ПС-ДВБ с ионообменной ёмкостью от 0,27 до 2,63 ммоль/г. Настолько высокоёмкостные фазы не подходят для

применения в режиме ИХ, однако, сорбент с промежуточной ёмкостью (0,78 ммоль/г) в режиме ОФ ВЭЖХ позволил разделить смесь 5 производных бензола за 16 мин, а в режиме ГИХ — смесь этиленгликоля, глицерина и декстрозы за 12 мин. Авторы показали, что снизить удерживание в первом режиме и повысить во втором возможно за счёт повышения ёмкости сорбента.

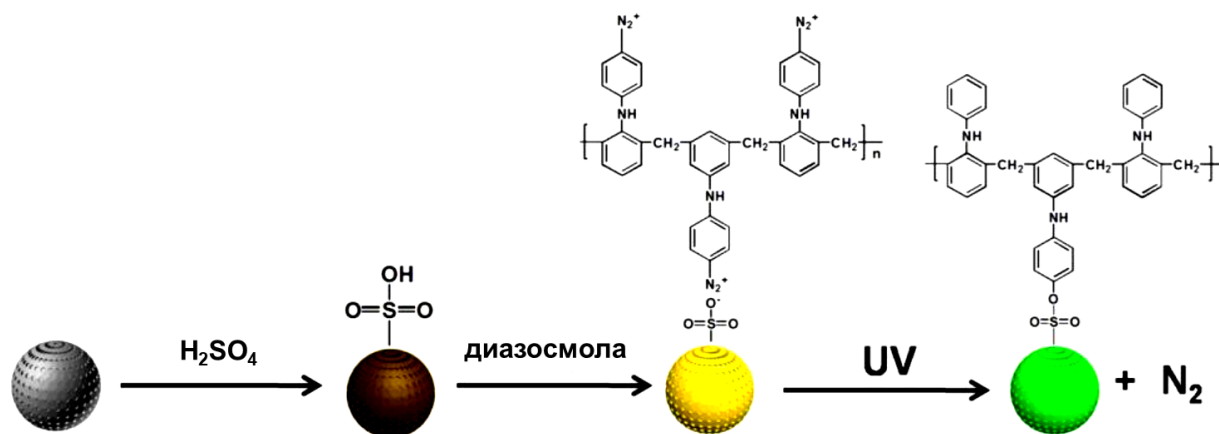


Рис. 5. Схема получения неподвижной фазы на основе ПС-ДВБ за счет ковалентного закрепления диазосмола [37].

В работе [41] описаны фазы на основе аминированного ПС-ДВБ с ковалентно закрепленными разветвленными функциональными слоями, полученными с помощью чередующихся реакций с 1,4-бутандиолдиглицидиловым эфиром (1,4-БДДГЭ) и МА. Первую получили с двумя слоями и концевыми эпокси-группами, а вторую — на основе первой с помощью ковалентного закрепления гликопептидного антибиотика — эремомицина. Для оценки свойств сорбентов в режиме ГИХ проводили тест, разработанный Нобуо Танака и коллегами для гидрофильных неподвижных фаз на основе силикагеля с использованием толуола в качестве маркера мертвого времени [42]. Однако, вместо толуола при тестировании фаз на основе гидрофобных матриц авторы [43] предложили использовать в качестве маркера t_0 воду, поскольку гидрофобные аналиты, такие как толуол, могут взаимодействовать с ароматической основой. Согласно тесту (табл. 1), сорбент с антибиотиком характеризовался большим фактором удерживания уридина $k(U)$. Рост $k(U)$ свидетельствует о повышении гидрофильности фазы в ГИХ. В результате несмотря на то, что оба сорбента подходили для разделения в режиме ГИХ 7 водорастворимых витаминов в градиентном режиме элюирования, фаза с эремомицином обеспечивала их большее удерживание. Также данный сорбент позволил неполностью разделить смесь 7 нуклеозидов и азотистых оснований за 10 мин в режиме ГИХ. Оба сорбента

подходили для разделения 7 алкилбензолов за 7 мин в режиме ОФ ВЭЖХ, а фазу с эремомицином применили для разделения энантимеров 4-хлор-фенилаланина за 3 мин. К недостаткам данных фаз можно отнести низкую эффективность — меньше 10000 тт/м для всех аналитов.

Таблица 1. Результаты теста Танака для неподвижных фаз на основе ароматических матриц, описанных в литературе

Сорбент	k(U)	$\alpha(\text{CH}_2)$	$\alpha(\text{OH})$	$\alpha(\text{V/A})$	$\alpha(\text{AX})$	$\alpha(\text{CX})$	$\alpha(\text{Tb/Tr})$	Статья
Сорбент с разветвленным слоем*	0,39	1,14	2,28	1,29	271,3	0	0,2	[41]
Сорбент с разветвленным слоем и привитым эремомицином*	1,15	1,12	1,79	1,32	34,1	0	0,52	
Катионообменник с SO_3^- -группами (22 мкмоль/мл)**	0,06	-	-	-	-	-	-	[44]
Катионообменник с группами COOH/OH^- (33 мкмоль/мл)	0,50	0,99	1,24	1,00	0	57,2	0,84	
Катионообменник с группами COOH/OH^- (50 мкмоль/мл)	0,74	1,05	1,46	1,11	0	84,3	0,83	
Катионообменник М1 с группами SO_3^- , COOH/OH^- (51 мкмоль/мл)	0,73	1,05	1,45	1,11	0	85,4	0,84	
Катионообменник М2 с группами SO_3^- , COOH/OH^- (52 мкмоль/мл)	0,68	1,04	1,44	1,09	0	104	0,83	
Катионообменник М4 с группами SO_3^- , COOH/OH^- (68 мкмоль/мл)	0,77	1,04	1,29	1,09	0	99,7	0,87	
Катионообменник М5 с группами SO_3^- , COOH/OH^- (314 мкмоль/мл)	1,88	1,12	1,58	1,09	0	95,9	0,83	
Анионообменник с таурином во внутренней части привитого гиперразветвленного слоя*	7,2	1,31	1,47	1,56	97,3	0,22	0,41	

* использование альтернативного маркера мертвого времени — воды

** в скобках приведена ионообменная ёмкость фаз

1.2.2. ОФ ВЭЖХ/ИОХ

Сорбенты, позволяющие работать как в режиме ОФ ВЭЖХ, так и ИОХ, являются наименее распространенными многофункциональными фазами. Интересным примером таких фаз является сорбент на основе диоксида циркония, покрытого полибутадиеном [9]. В присутствии буферов, содержащих жесткие основания Льюиса (например, фосфаты, фториды, карбоновые кислоты), поверхность диоксида циркония становится отрицательно заряженной из-за адсорбции аниона буфера.

Следовательно, в большинстве условий (например, при нейтральном рН) основные аналиты вступают как в гидрофобные, так и в катионообменные взаимодействия. Преимущественно ОФ режим удерживания может быть получен при чрезвычайно высоких значениях рН (около рН 12). Авторы показали, что он менее предпочтителен, так как в присутствии электростатических взаимодействий удерживание и селективность легко можно регулировать путем варьирования типа буферного аниона жесткого основания Льюиса, буферного противоиона (например, натрий, калий, аммоний), рН и ионной силы элюента. На рис. 6 показана хроматограмма разделения на таком сорбенте 7 лекарственных препаратов до базовой линии за 9 мин. Максимальную эффективность (4000 тт/м) достигали при использовании в качестве буферного раствора фосфата аммония, что является довольно низким показателем с учетом размера частиц — 4,1 мкм.

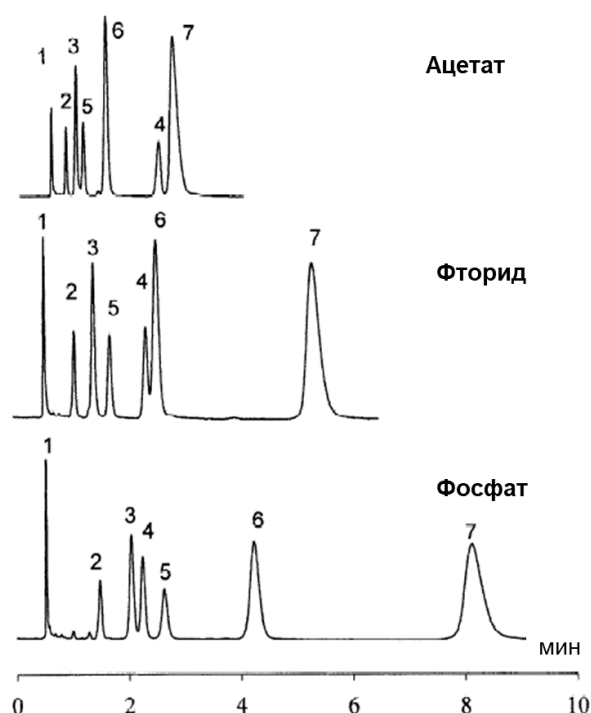


Рис. 6. Разделение лекарственной смеси на диоксиде титана, модифицированном полибутадиеном [9]. Подвижная фаза: ацетонитрил с добавкой 15 мМ трис(гидроксиэтил)аминометана – 30 мМ ацетат аммония, фторид аммония или фосфат аммония (37,5:62,5, об.%), рН 7.5. Колонка: 50 × 4,6 мм. Скорость потока: 1,0 мл/мин. Температура колонки: 40°С. УФ-детектирование при 254 нм. Аналиты: 1 – дименгидринат, 2 – доксиламин, 3 — пириламин, 4 — меклизин, 5 – хлорфенирамин, 6 — доксепин, 7 – дезипрамин.

В статье [45] синтезировали сорбенты на основе пористых полисилсесквиоксановых микросфер, полученных путем соконденсацией метилтриметоксисилана и меркаптопропилтриметоксисилана. С помощью

варьирования соотношения двух мономеров и последующей «тиол-еновой» клик-реакции полученных продуктов с аллиламином получили фазы с разной плотностью амино-групп: 0,63 и 1,71 мкмоль/м². Обе фазы позволяли разделить 4 неорганических аниона (BrO_3^- , NO_3^- , I^- , SCN^-) за 8 и 10 мин, соответственно. Также они обеспечивали в режиме ОФ ВЭЖХ разделение 5 алкилбензолов за 50 и 30 мин, что говорит о повышении гидрофильности фазы за счет увеличения плотности аминогрупп. На наиболее гидрофильной фазе в режиме ОФ ВЭЖХ также разделили 4 витамина В в градиентном режиме — В₁, В₆, В₃, В₉.

Возможности ПС-ДВБ, модифицированного окисленными наноалмазами, показаны в работе [46] на примере разделения производных бензола в режиме ОФ ВЭЖХ (рис. 7а, 7б). Авторы отмечают, что за счет такого модифицирования удалось снизить удерживание всех аналитов, а также повысить эффективность — для толуола до 6500 тт/м, а для бензальдегида — до 9000 тт/м. Также в этой статье описан анионообменник, полученный после сульфирования модифицированного ПС-ДВБ и электростатического закрепления на его поверхности полиэлектролита, состоящего из МА и 1,4-БДДГЭ, с последующим закреплением постадийно наращиваемых из МА и 1,4-БДДГЭ трёх слоев. Он позволил в режиме ИХ с подавлением фоновой электропроводности разделить 7 стандартных анионов за 20 мин с хорошей симметрией пиков, но низкой эффективностью — 7500 и 7000 тт/м для хлорида и нитрата, соответственно (рис. 7в).

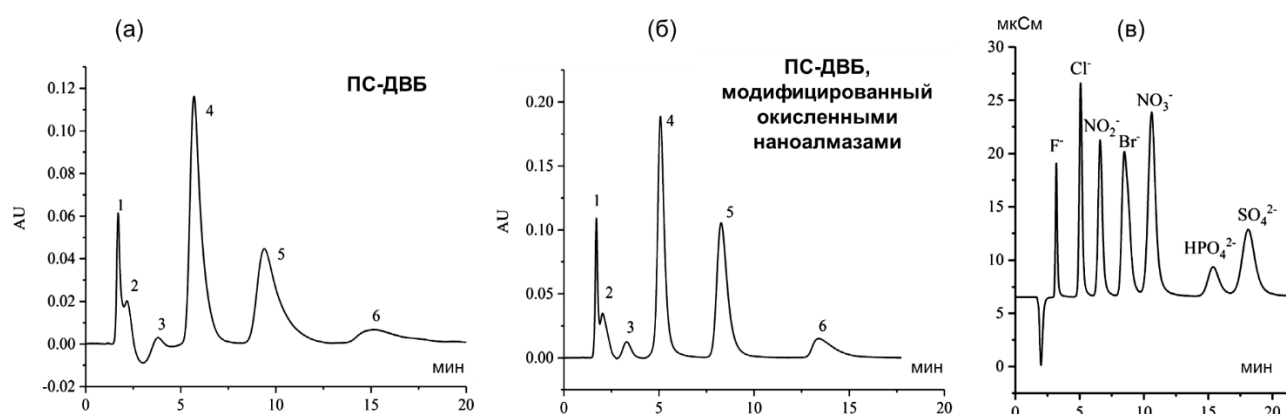


Рис. 7. Хроматограммы смеси производных бензола на ПС-ДВБ (а) и ПС-ДВБ, модифицированном окисленными наноалмазами (б), а также хроматограмма 7 стандартных анионов на анионообменнике с 3-мя слоями (в). Подвижная фаза: (а) метанол – вода (85:15, об.%); (б) 2 мМ Na_2CO_3 + 2 мМ NaHCO_3 . Колонки: 120 × 4,6 мм (а) и (б), 150 × 4,6 мм (в). Скорость потока: 1,0 мл/мин. УФ-детектирование при 250 нм (а), (б), кондуктометрическое (в). Аналиты: 1 – 1,4-гидрохинон, 2 – бензойная кислота, 3 – фенол, 4 – метил-п-гидроксибензоат, 5 – бензальдегид, 6 – толуол [46].

1.2.3. ИОХ/ГИХ

Известно, что в режиме ГИХ возможна реализация нескольких механизмов удерживания: распределительного, адсорбционного, а также электростатических взаимодействий [47]. В зависимости от природы аналита, функциональных групп неподвижной фазы, состава подвижной фазы может преобладать тот или иной механизм. В данном разделе в основном будут представлены сорбенты для ГИХ, для которых также продемонстрирован ионообменный механизм удерживания некоторых аналитов.

Авторы статьи [48] активировали поверхность силикагеля за счет модифицирования 4-(хлорметил)фенилтриметоксисиланом, а затем с помощью АТРР-полимеризации прививали сополимер ГМА и 2-диметиламиноэтилметакрилата (ДМАЭМА), после чего гидролизовали эпокси-кольца (рис. 8). За счет варьирования молярного соотношения двух мономеров получили 3 фазы. Показано, что с увеличением доли ДМАЭМА удерживание кислотных аналитов повышалось из-за электростатического притяжения, основных — снижалось из-за электростатического отталкивания. Предсказуемо изменение соотношения мономеров не оказало существенного влияния на удерживание нейтральных веществ и на гидрофильность фаз. Все полученные фазы позволяли разделить 4 основных аналита, однако их наиболее экспрессно удалось разделить за 10 мин на сорбенте с наибольшим содержанием ДМАЭМА. Кроме того, только эта фаза позволила разделить 6 ароматических кислот, вклад в удерживание которых вносят электростатические взаимодействия, до базовой линии за 10 мин. Все сорбенты обеспечивали неполное разделение 7 азотистых оснований и нуклеозидов за 8 мин.

Аналогичный подход к созданию многофункциональных цвиттер-ионных фаз на основе силикагеля с помощью АТРР-полимеризации та же группа ученых применила в работе [49]. Отличие заключалось в замене ГМА на 4-стиролсульфонат натрия и его сополимеризации с ДМАЭМА. Как и в предыдущей работе варьировали молярное отношение двух мономеров и получили 3 фазы. На фазе с наибольшим содержанием ДМАЭМА удалось разделить 8 азотистых оснований и нуклеозидов за 20 мин (рис. 9а) и 8 β -агонистов за 12 мин. Для некоторых пиков нуклеозидов и β -антагонистов отметили размывание заднего фронта, что связали с их взаимодействием с недостаточно экранированными отрицательно заряженными

остаточными силанольными группами. Смесь 12 веществ, включая нуклеозиды, нейтральные, кислые и основные аналиты удалось разделить за 21 мин на сорбенте с наименьшим содержанием ДМАЭМА, за счет повышения температуры колонки с 30 до 55°C.

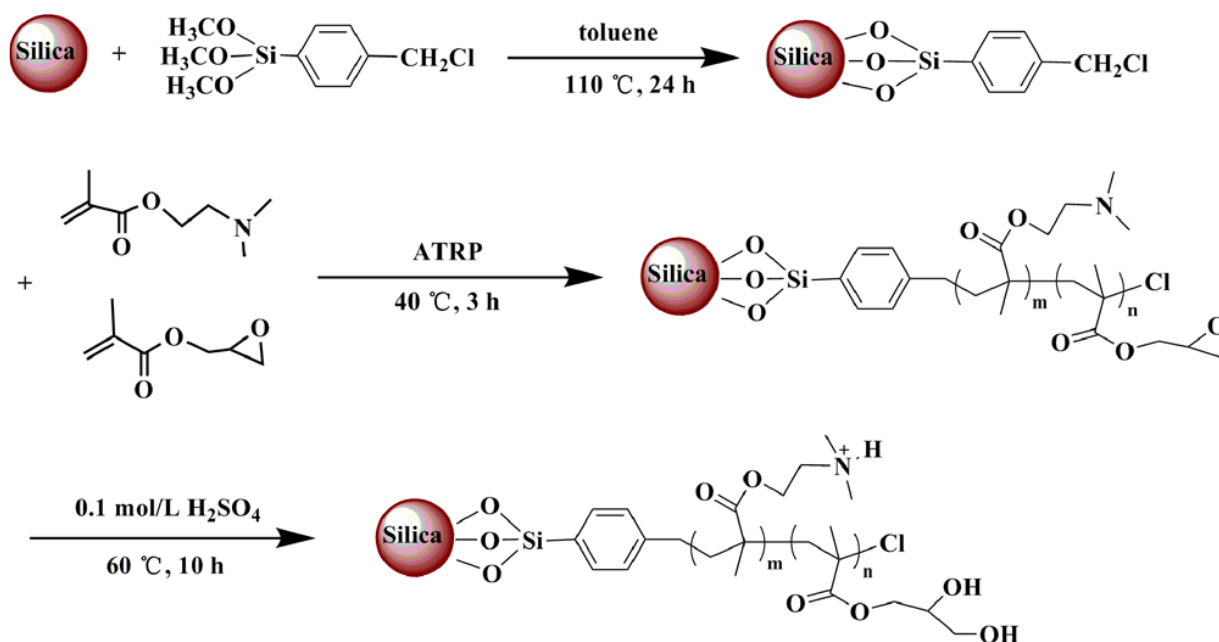


Рис. 8. Схема синтеза сорбента на основе силикагеля за счет сополимеризации ГМА и ДМАЭМА [48].

В своей следующей работе [50] те же авторы сравнили два разных способа ATRP-полимеризации 4-стиролсульфоната натрия с ДМАЭМА: их совместную статистическую полимеризацию и блок-сополимеризацию, при которой сначала полимеризовали 4-стиролсульфонат натрия, а затем ДМАЭМА. Различий в селективности полученных фаз по отношению к основным β -агонистам и полярным нуклеозидам не наблюдали. Однако, по отношению к кислотам селективность на колонке с блок-сополимером несколько ниже, чем на колонке со статистическим сополимером, что авторы связывают с постепенной потерей инициатора, в результате чего в функциональном слое фазы находится меньшее число третичных аминогрупп. Новые многофункциональные фазы [48–50] значительно превосходили по селективности классические сорбенты для ГИХ — 3-аминопропилсиликагель и диол-силикагель (рис. 9б).

В статье [51] описан способ получения сорбента на основе силикагеля, модифицированного тиольными группами, за счёт «тиол-еновой» клик-реакции с ионной жидкостью — N,N-диаллил-N-метил-D-глюкамина бромидом. Благодаря наличию в структуре функционального слоя сорбента глюкозы и заряженной

четвертичной аммониевой группы его применили в режиме ГИХ для разделения 5 нуклеозидов за 10 мин с эффективностью по цитидину до 70000 тт/м, а также фенола и 7 ароматических кислот за 28 мин, причем их удерживание определялось также и электростатическими взаимодействиями (рис. 10).

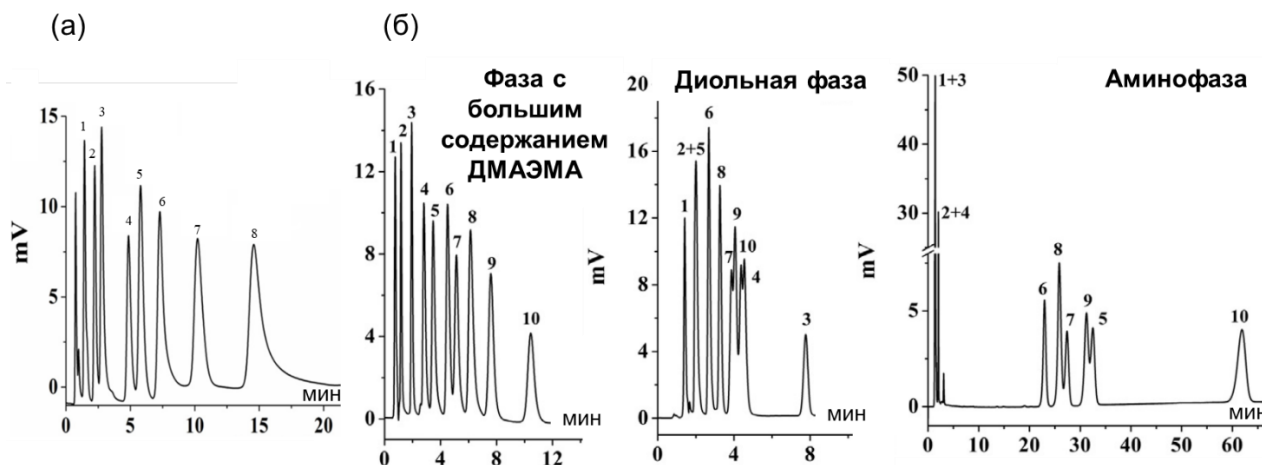


Рис. 9. Разделение азотистых оснований на фазе с большим содержанием ДМАЭМА (а) и сравнение разделения аналитов разной природы на данном сорбенте и классических сорбентах для ГИХ (б). Подвижная фаза: ацетонитрил – 20 мМ аммиачно-формиатный буферный раствор (АФБ) (92:8, об.%), рН 6.8. Колонки: 50 × 4,6 мм, за исключением диольной: 100 × 4,6 мм. Скорость потока: 1,0 мл/мин. Температура колонки: 30°C. УФ-детектирование при 240 нм. Аналиты: (а) 1 – тимин, 2 – дезоксиаденозин, 3 – аденозин, 4 – цитозин, 5 – дезоксицитидин, 6 – цитидин, 7 – дезоксигуанозин, 8 – гуанозин; (б) 1 – толуол, 2 – теofilлин, 3 – меламина; 4 – фенэтаноламин А; 5 – аминокислота бензойная; 6 – парабромбензойная кислота; 7 – бромбензойная кислота; 8 – нафтилуксусная кислота; 9 – 4-бромбензоуксусная кислота; 10 – индолуксусная кислота [49].

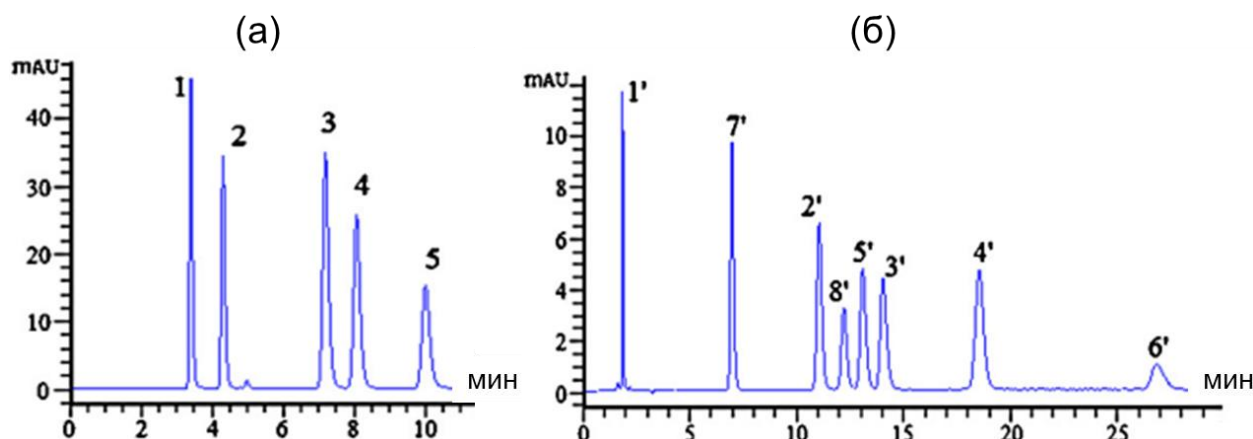


Рис. 10. Хроматограммы разделения смесей азотистых оснований (а) и замещённых кислот (б) на фазе с привитым глюкамином, полученной в [51]. Подвижная фаза: ацетонитрил – 100 мМ АФБ: (а) (15:85, об.%), рН 6.4 и (б) — (10:90, об.%), рН 6.4. Колонка: 150 × 4,6 мм. Скорость потока: 1 мл/мин. УФ-детектирование при 254 нм. Аналиты: (а) 1 – 3-метилуридин, 2 – 5-метилуридин, 3 – 1-метилгуанозин, 4 – инозин, 5 – цитидин; (б) 1' – фенол, 2' – анисовая кислота, 3' – бензойная кислота, 4' – 4-гидроксибензойная кислота, 5' – 3-хлорбензойная кислота, 6' – 3-гидроксибензойная кислота, 7' – 3,5-динитробензойная кислота, 8' – п-нитробензойная кислота.

Авторы [52] получали сорбент на основе силикагеля, содержащего эпокси-группы, за счёт их реакции с аминогруппами разветвленного полиэтиленimina (ПЭИ). Такой сорбент обеспечивал разделение в режиме ГИХ 5 нуклеозидов и азотистых оснований за 16 мин (рис. 11а), 6 сахаров за 15 мин, 5 аминокислот за 16 мин (рис. 11б), а также 5 ароматических кислот менее чем за 8 мин, причем в их удерживание также вносил вклад и ионный обмен. В то же время полученная фаза подходила для разделения 7 неорганических анионов, включая сильнополяризуемый иодид и роданид в режиме ИОХ с эффективностью по нитрату до 73500 тт/м (рис. 11в).

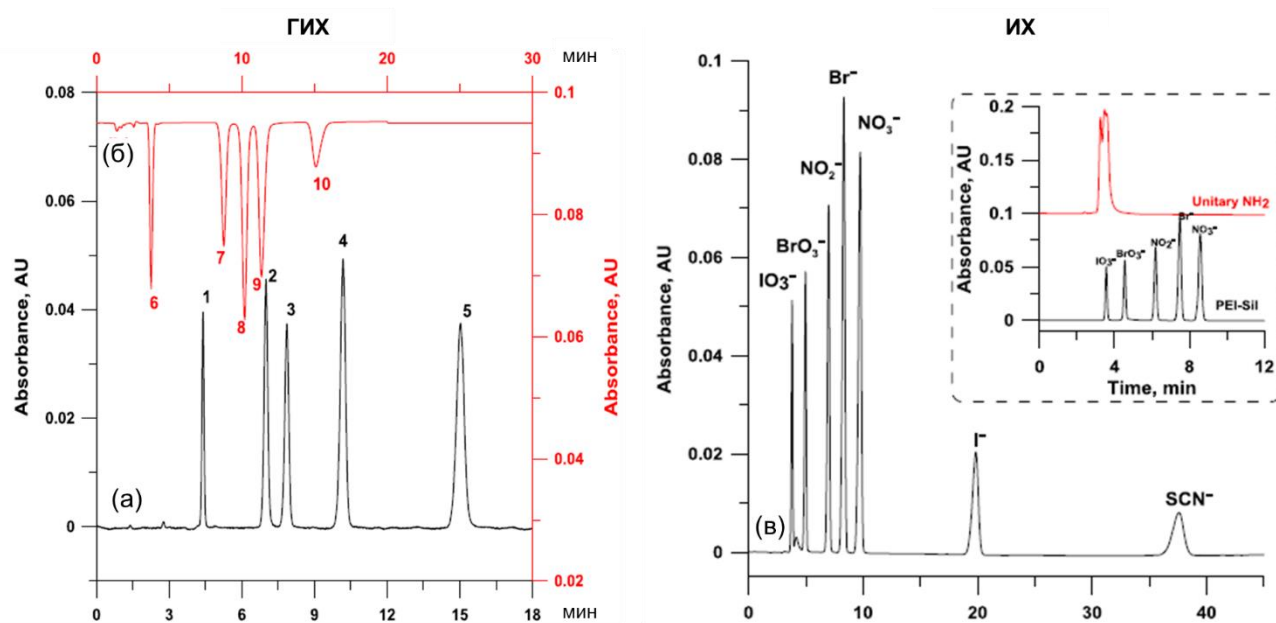


Рис. 11. Хроматограммы разделения смесей нуклеозидов (а), аминокислот (б) в режиме ГИХ и анионов в режиме ИХ на сорбенте с привитым ПЭИ на основе силикагеля [52]. Подвижная фаза: (а) ацетонитрил – вода (90:10, об.%); (б) ацетонитрил – 150 мМ АФБ (75:25, об.%), рН 3.0; (в) 5 мМ Na₂SO₄. Колонка: 150 × 4,6 мм. Скорость потока: 1,0 мл/мин. УФ-детектирование при 254 нм (а), (б) и при 210 нм (в). Аналиты: (а) 1 – урацил, 2 – 5-метилуридин, 3 – уридин, 4 – аденин, 5 – цитозин; (б) 1 – 3,5-динитробензоил-лейцин, 2 – фенилаланин, 3 – триптофан, 4 – фенилглицин, 5 – тирозин.

В работе [53] описан способ получения сорбентов на основе ПГУ за счет покрытия его поверхности слоем поливинилового спирта (ПВС) или его сополимера с диаллилдиметиламмония хлоридом с последующей сшивкой ПВС при 140°С. Фаза, покрытая слоем сшитого ПВС, позволяла в режиме ГИХ разделить 7 нуклеозидов и азотистых оснований за 9 мин с эффективностью по цитозину 70000 тт/м, 5 сахаров за 10 мин с эффективностью до 40000 тт/м (рис. 12а), 3 фенола менее чем за 5 мин с эффективностью по резорцинолу 118000 тт/м, а также 4 аминокислоты и 8 ароматических кислот за 6 и 18 мин (рис. 12б). В то же время в режиме ИОХ авторы

продемонстрировали возможности второй фазы, покрытой сополимером ПВС и диаллилдиметиламмония хлорида. С УФ-детектированием и при использовании 10 мМ Na₂SO₄ сорбент позволил разделить 5 анионов за 7 мин, в то же время в связи с высокой химической стабильностью ПГУ он подходил и для использования в режиме ИХ с подавлением. Он обеспечил разделение с эффективностью до 34000 тт/м смеси 8 неорганических анионов, включая 7 стандартных анионов и бромат (рис. 12в). Данная фаза обладала интересной селективностью — бромат на ней удерживался меньше хлорида, а нитрат меньше бромида. Последнее крайне необычно для классических анионообменников и говорит о высокой гидрофильности фаз на основе ПГУ. Авторы сообщили о достаточно высокой стабильности полученных фаз в диапазоне pH 1.0–12.7.

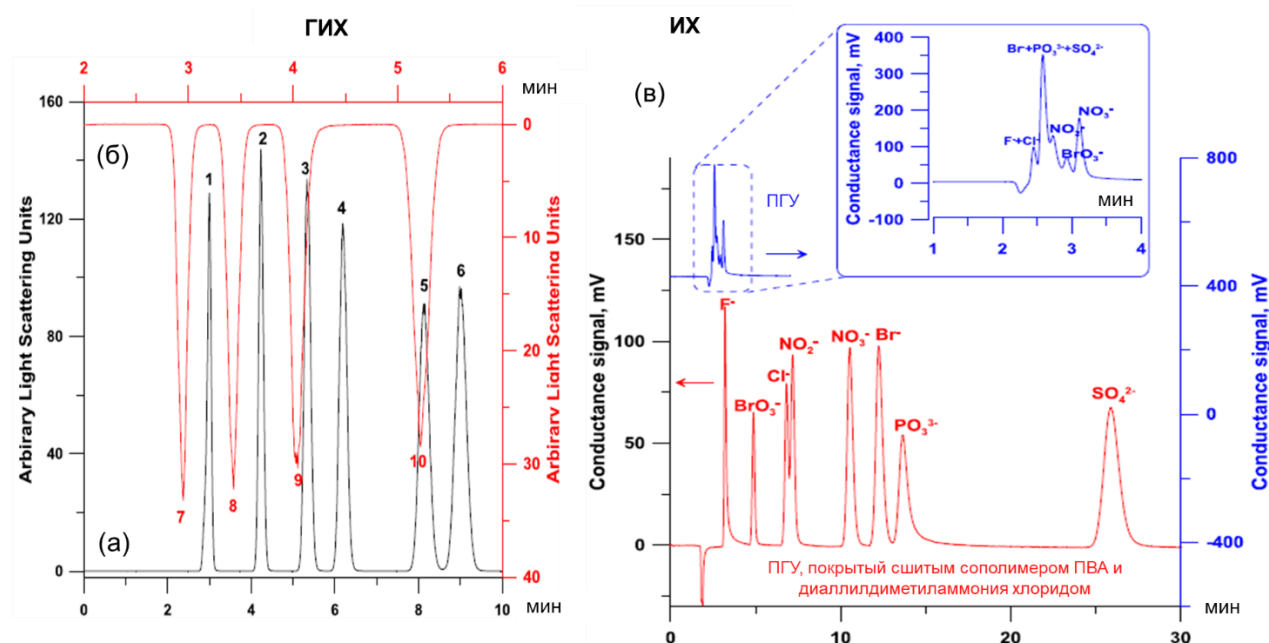


Рис. 12. Хроматограммы разделения смесей сахаров (а), аминокислот (б) в режиме ГИХ на ПГУ, покрытом сшитым ПВС, и анионов в режиме ИХ с подавлением на немодифицированном ПГУ и ПГУ, покрытом сшитым сополимером ПВС и диаллилдиметиламмония хлоридом [53]. Подвижная фаза: (а) ацетонитрил – 200 мМ АФБ (90:10, об.%), pH 6.8; (б) ацетонитрил – 250 мМ АФБ (75:25, об.%), pH 6.8; (в) 5 мМ K₂CO₃ + 3 мМ KHCO₃. Колонка: 150 × 4,6 мм. Скорость потока: 1,0 мл/мин. Детектирование по светорассеянию (а), (б) и кондуктометрическое (в). Аналиты: 1 – D-рибоза, 2 – маннит, 3 – сахароза, 4 – мальтит, 5 – раффиноза, 6 – мелезитоза, 7 – фенилаланин, 8 – метионин, 9 – тирозин, 10 – аланин.

Таким образом, замена силикагеля на матрицу, стабильную во всем диапазоне pH позволила использовать сорбент на ее основе в режиме ИХ с подавлением для определения наиболее востребованных в современном анионном анализе 7 стандартных неорганических анионов. Кроме того, совместно с ними удалось

разделить бромат, определение которого важно при анализе питьевых вод, ввиду его возможной канцерогенности [54], а элюирование бромата до хлорида может быть полезным при его определении в образцах с высоким содержанием хлорида [7].

1.2.4. ИОХ/ГИХ/ОФ ВЭЖХ

Одними из наиболее распространенных многофункциональных сорбентов являются тримодальные фазы, позволяющие работать сразу в трёх режимах: ОФ ВЭЖХ, ГИХ и ИОХ. Чаще всего эти фазы подходят для работы в режиме ИОХ с УФ-детектированием, и лишь несколько работ последних лет посвящено тримодальным сорбентам, подходящим для ИХ с подавлением. Данные работы будут рассмотрены в конце этого раздела, а в его первой части будут описаны тримодальные фазы на основе матриц с низкой химической стабильностью.

Авторы [55] предложили синтез двух сорбентов на основе силикагеля, модифицированного винильными группами. Для этого проводили двойную «тиол-еновую» реакцию *in situ* между матрицей, поли(3-меркаптопропил)метилсилоксаном и N-(10-ундеценил)-3-аминохинуклидином. Второй сорбент получали из первого за счет окисления остаточных тиолов до сульфо-групп. Первая колонка обеспечивала в режиме ГИХ разделение 3 витаминов (тиамин, пиридоксин, рибофлавин) за 4 мин, в то же время никотиновая кислота удерживалась значительно дольше остальных — 46 мин. За счет введения в структуру сорбента отрицательно заряженных сульфо-групп ее удерживание снизилось до 36 мин, в то время как удерживание остальных витаминов не изменилось. Аналогично и удерживание 3 ксантинов осталось прежним — на обеих фазах их удалось разделить за 2,5 мин. Введение сульфо-группы привело к росту факторов удерживания 5 нуклеозидов, но и к снижению селективности по паре уридин/аденозин. В результате первая фаза позволяла разделить смесь 5 нуклеозидов за 10 мин, а вторая — лишь 4 анализа за 12 мин. В режиме ОФ ВЭЖХ сорбент с сульфо-группами характеризовался значительно меньшим удерживанием алкилбензолов — на нем смесь 4 алкилбензолов вместо 60 мин удалось разделить за 12 мин в тех же условиях. Авторы отмечают, что окисление тиолов позволило быстрее элюировать сильно удерживаемые анионные вещества, в частности такие многозарядные аналиты, как олигонуклеотиды.

Авторы [56] получали многофункциональный сорбент на основе силикагеля с привитыми тиольными группами за счет «тиол-еновой» клик-реакции одновременно

с 4-стиролсульфонатом натрия и с ионной жидкостью, полученной из винилимидазола и 1-бромоктадекана. В режиме ГИХ такой сорбент позволил разделить смесь 5 азотистых оснований и нуклеозидов за 15 мин, а также 5 флавоноидов за 27 мин. В ОФ режиме сорбент, помимо разделения 5 алкилбензолов за 12,5 мин, позволял разделить за 24 мин смесь 4 позиционных изомеров (о-терфенил, м-дифенилбензол, п-терфенил и трифенилен). В режиме ИОХ продемонстрировано применение полученной фазы для разделения 3 фенолов, 3 ароматических кислот и 5 анилинов за 6, 8,5 и 24 мин.

Неподвижная фаза в работе [57] получена на основе силикагеля, модифицированного 3-хлорпропилтриметоксисиланом, путем реакции с 2-метилиндролом, далее с трихлороктадецилсиланом для введения алкильного радикала, а последней стадией являлся энд-кэппинг остаточных силанольных групп хлортриметилсиланом. Подобный сорбент проявлял слабые гидрофильные взаимодействия и в режиме ГИХ обеспечивал лишь неполное разделение 4 аминокислот с использованием слабого элюента (рис. 13а). В то же время, он позволял в режиме ОФ ВЭЖХ разделить 6 аминокислот до базовой линии, а также обеспечивал неполное разрешение пары лейцин/изолейцин (рис. 13б). Кроме того, в этом режиме показано его применимость к разделению 7 алкилбензолов и 7 ПАУ. В режиме ИОХ данную колонку использовали для разделения 5 неорганических анионов за 11 мин, включая сильнополярizable иодид (рис. 13в).

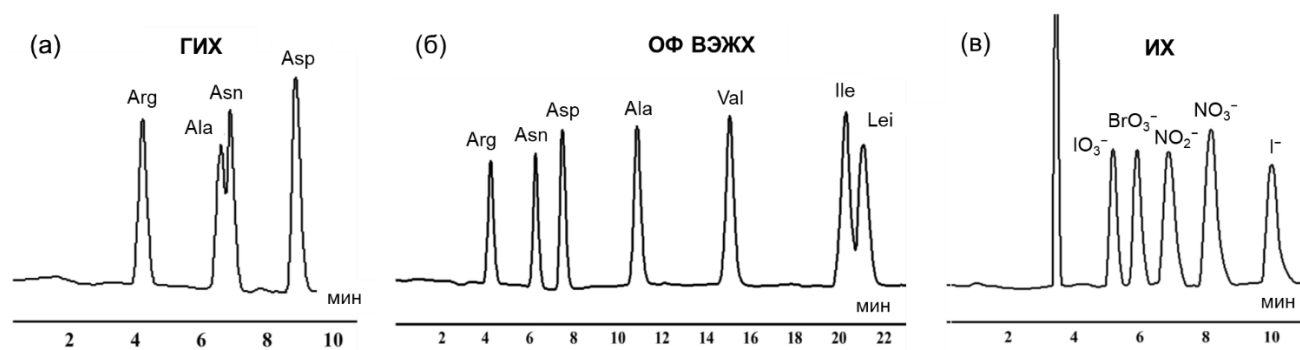


Рис. 13. Разделение на полученной в работе [57] колонке аминокислот в режиме ГИХ (а) и ОФ ВЭЖХ (б), а также неорганических анионов в режиме ИХ (в). Подвижная фаза: (а) метанол – 100 мМ CH₃COONa, pH 6.8 (95:5, об.%); (б) метанол – 100 мМ CH₃COONa, pH 6.8 (40:60, об.%); (в) 80 мМ KCl, pH 4.0. Колонка: 250 × 4,6 мм. Скорость потока: 1 мл/мин. УФ-детектирование при 263 нм (а), (б) и 210 нм (в).

Исследование [58] посвящено созданию многофункциональной фазы на основе силикагеля, содержащего эпокси-группы. В начале проводили гидролиз оксирановых

колец с образованием диольных фрагментов, затем с помощью реакции с гидросульфитом натрия при нагревании концевую гидроксильную группу переводили в сульфо-группу, после чего к оставшимся гидроксилам прививали C18-радикалы с помощью стеароилхлорида. В режиме ГИХ такой сорбент позволял разделить 5 азотистых оснований менее чем за 9 мин, а в ОФ ВЭЖХ обеспечивал неполное разделение 5 алкилбензолов за 6 мин. Кроме того, продемонстрирована возможность разделения на нем 3 основных веществ за 10 мин в режиме ИОХ (дициандиаמיד, меламин и метформин). Авторы отмечают, что введение сильных катионообменных групп значительно повысило селективность к основным веществам, а введение C18-радикала — к гидрофобным, в результате данная фаза обеспечила разделение 6 алкиланилинов, удерживающихся одновременно за счет электростатических и гидрофобных взаимодействий.

Дендримерные органические молекулярные гели представляют собой многообещающий класс трехмерных сетчатых соединений, которые привлекли внимание ученых-разработчиков многофункциональных сорбентов [59,60]. В работе [59] получали сорбент за счет покрытия силикагеля органическим гелем, полученным из 1-аллил-3-метилимидазолия гексафторфосфата, 1-додекантиола и пентаэритриттриакрилат. Возможности фазы в режиме ОФ ВЭЖХ показали на примере разделения смеси 6 алкилбензолов за 15 мин с эффективностью до 3500 тт/м. В режиме ГИХ фаза позволила разделить смесь 6 нуклеозидов и азотистых оснований за 8 мин с эффективностью до 5000 тт/м. Кроме того, на сорбенте продемонстрировали возможности разделения смеси 5 ароматических кислот за 20 мин с эффективностью до 2700 тт/м, причем их удерживание определялось как ионным обменом, так и гидрофильными взаимодействиями.

В работе [60] синтезировали неподвижную фазу на основе аминопропилсиликагеля с привитым с помощью цианурхлорида дендритным органическим молекулярным гелем. Такой гель предварительно получали с использованием в качестве инициатора бензилового спирта и диметил-5-гидроксиизофталата в качестве структурной единицы, причем последний добавляли трижды и получали трехслойный гель. Разработанная неподвижная фаза характеризовалась высокой селективностью по форме молекул и позволила в режиме ОФ ВЭЖХ разделить 3 позиционных изомера за 34 мин, а 6 ПАУ на ней удалось

разделить за 11 мин. Помимо этого полученный сорбент позволял с эффективностью до 14500 тт/м разделять до базовой линии 6 монозамещенных производных бензола менее чем за 11 мин при использовании в качестве элюента смеси ацетонитрил – вода (20:80 об. %). В режиме ГИХ на данной фазе удалось разделить тиомочевину и 5 нуклеозидов и азотистых оснований за 9 мин. В режиме ГИХ/ИОХ сорбент применили для разделения 3 органических кислот за 30 мин с эффективностью до 17000 тт/м при использовании в качестве подвижной фазы смеси ацетонитрил – 60 мМ ААБ (80:20), рН 6.21.

Получение сорбента на основе аминопропилсиликагеля за счет прививки 1,3,5-триформилфлороглюцина с последующей сополимеризацией на полученной поверхности 1,3,5-триформилфлороглюцина и дигидроксибензидина, описано в статье [61]. Такая фаза позволила в режиме ГИХ разделить смесь 6 нуклеозидов и азотистых оснований за 22 мин, а в режиме ОФ ВЭЖХ смеси 4 ПАУ и 5 алкилбензолов за 13 и 10 мин. Также она обеспечила разделение 6 ароматических кислот за 20 мин, удерживающихся на ней сразу за счет электростатических и гидрофильных взаимодействий. Несмотря на небольшое размывание заднего фронта пиков некоторых аналитов, данный сорбент характеризовался высокой эффективностью. Так по пропилбензолу она составила 32500 тт/м, а по п-нитробензойной кислоте — 54500 тт/м. Кроме того, на сорбенте провели определение в озерной воде 4 органических загрязнителей за 6 мин (фенантрен, меламин, кофеин и бензойная кислота).

Группа авторов в работах [44,62,63] показала широкие возможности катионообменников на основе ПС-ДВБ в качестве многофункциональных фаз. Ученые получили ряд катионообменников с разными ионообменными ёмкостями за счёт карбоксилирования частиц ПС-ДВБ пермуравьиной кислотой и последующего сульфирования серной кислотой [63]. В результате получали сорбенты со слабыми и сильными катионообменными центрами (карбоксильные и сульфо-группы). Кроме того, проводили восстановление части карбоксильных групп с помощью алюмогидрида лития для получения гидроксильных групп на поверхности ПС-ДВБ и повышения его степени гидрофилизации [63,64]. Результаты теста Танака в режиме ГИХ для полученных фаз, а также ионообменные ёмкости и типы функциональных групп на поверхности частиц приведены в табл. 1. Из представленных данных можно

сделать вывод, что использование сульфированного ПС-ДВБ с небольшой ёмкостью приводит к низкому $k(U)$, что говорит о невозможности использовать такую фазу в режиме ГИХ. В то же время, при повышении ёмкости, а также введении в структуру сорбента гидроксильных и карбоксильных групп авторам удалось значительно повысить гидрофильность в этом режиме. Наибольшее $k(U)$ достигнуто для высокоёмкостной фазы со всеми тремя типами функциональных групп. Наиболее подробно изучена колонка М1 с тремя типами групп и наименьшей ёмкостью (табл. 1). В режиме ГИХ изучили ее селективность к 15 азотистым основаниям и нуклеозидам, показано разделение 4 аналитов за 7 мин с эффективностью по гуанозину до 21500 тт/м (рис. 14а). В режиме ОФ ВЭЖХ она подходила для неполного разделения 7 алкилбензолов за 5 мин с эффективностью до 18500 тт/м (рис. 14б). Также продемонстрировано, что с повышением ёмкости и гидрофильности сорбента снижается удерживание алкилбензолов. Кроме того, в режиме ИОХ показали возможность разделения на фазе М2 6 алкиламинов за 30 мин с эффективностью до 12000 тт/м (рис. 14в). А фазу М1 также успешно применили для разделения 20 аминокислот и их определения в пиве при использовании масс-спектрометрического детектирования (МС-детектирование) [62]. Изучение механизмов удерживания показало, что при этом разные аминокислоты удерживаются за счет разных взаимодействий: гидрофильных, гидрофобных и/или электростатических.

Авторы [65] подробно изучили сорбент на основе ПГУ, впервые описанный в [53] и рассмотренный в разделе 1.2.3, и показали его использование в трёх режимах. Фаза, модифицированная с помощью ПВС и диаллилдиметиламмония хлорида, позволила в режиме ИОХ разделить 6 неорганических анионов (IO_3^- , BrO_3^- , NO_2^- , Br^- , NO_3^- , SCN^-) с использованием в качестве элюента 5 мМ NaHCO_3 , что говорит о возможности использовать его и в режиме ИХ с подавлением. Кроме того, данный сорбент также обеспечивал разделение в режиме ГИХ 7 нуклеозидов и азотистых оснований за 10 мин с эффективностью по цитидину 60000 тт/м и 14 аминокислот в градиентном режиме элюирования за 28 мин. Также в работе показана возможность разделения 9 ароматических кислот за 15 мин, которые удерживаются за счет электростатических взаимодействий, гидрофильных и гидрофобных в зависимости от состава подвижной фазы и аналита.

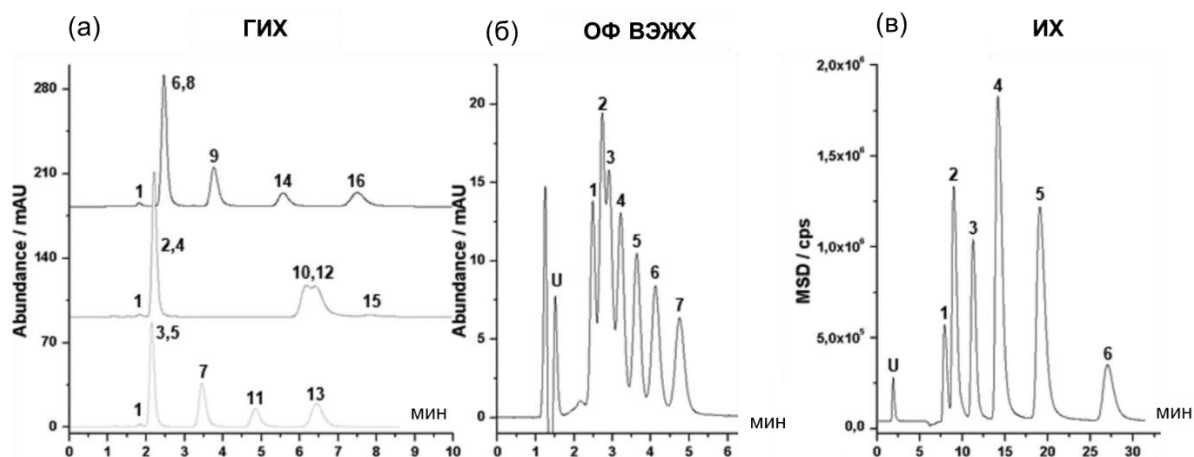


Рис. 14. Хроматограммы разделения смесей азотистых оснований и нуклеозидов в ГИХ (а), алкилбензолов в ОФ ВЭЖХ (б) на фазе М1 и алкиламинах в ИХ (в) на фазе М2 [44]. Подвижная фаза: (а) ацетонитрил – 20 мМ АФБ, (90:10, об.%); (б), (в) ацетонитрил – 100 мМ АФБ (70:30, об.%). Колонки: 100 × 2 мм. Скорость потока: 0,2 мл/мин. Температура колонки: 45°С. УФ-детектирование при 254 нм (а), (б) и МС-детектирование (в). Аналиты: (а) 1 – толуол, 2 – тимин, 3 – тимидин, 4 – урацил, 5 – 2'-дезоксиаденозин, 6 – 5-метилуридин, 7 – 2'-дезоксисуридин, 8 – уридин, 9 – аденозин, 10 – аденин, 11 – 2'-дезоксипитидин, 12 – цитозин, 13 – 2'-дезоксигуанозин, 14 – цитидин, 15 – гуанин, 16 – гуанозин; (б) 1 – бензол, 2 – толуол, 3 – этилбензол, 4 – пропилбензол, 5 – бутилбензол, 6 – пентилбензол, 7 – гексилбензол; (в) 1 – триметиламин, 2 – триэтиламин, 3 – трипропиламин, 4 – трибутиламин, 5 – трипентиламин, 6 – тригексиламин.

В работе [66] полимеризовали АГЭ на поверхности ПС-ДВБ, затем раскрывали привитые эпокси-кольца ПЭИ с молекулярной массой 600, 1800 и 70000 (рис. 15). В режиме ГИХ полученные фазы позволяли разделить до 7 нуклеозидов и азотистых оснований за 11-16 мин, 8 ароматических кислот за 35-43 мин. Фаза с ПЭИ с молекулярной массой 1800 показала лучшие результаты и обеспечивала разделение в градиентном режиме элюирования 6 сахаров за 18 мин и 5 фруктоолигосахаридов за 15 мин. Полученные сорбенты демонстрировали U-образную зависимость фактора удерживания аналитов от содержания воды (ϕ) в подвижной фазе. Типичное для режима ГИХ изменение факторов удерживания наблюдалось, когда доля органического растворителя превышала 60%. Кроме того, проводили кватернизацию аминогрупп ПЭИ с помощью 2-бромэтанола с целью повышения ионообменной ёмкости и получения сорбента пригодного для ИХ. Такой сорбент позволил разделить смесь 6 стандартных анионов за 18 мин (F^- , Cl^- , NO_2^- , Br^- , NO_3^- и SO_4^{2-}) в режиме ИХ с подавлением при использовании 5 мМ КОН.

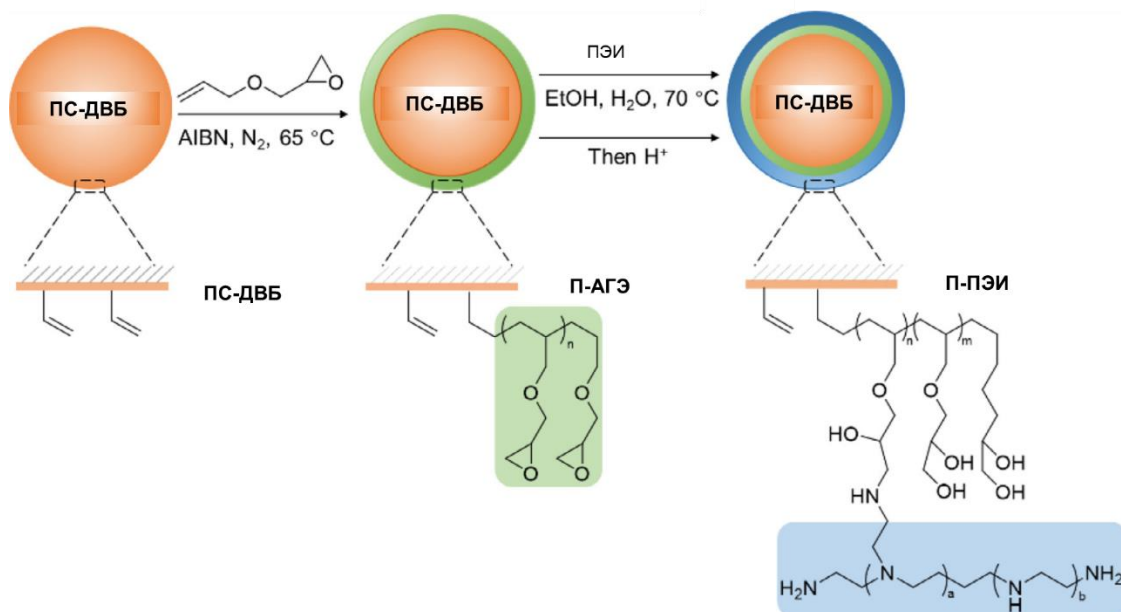


Рис. 15. Схема синтеза сорбента на основе ПС-ДВБ за счет полимеризации АГЭ на его поверхности и последующей прививки ПЭИ [66].

Авторы [67] получили анионообменник на основе аминированного ПС-ДВБ путем ковалентного закрепления гиперразветвленного функционального слоя с помощью реакции 1,4-БДДГЭ и МА или таурина, причем последний использовали при создании внутренней части функционального слоя. Данный сорбент характеризовался высокой селективностью по отношению к анионам органических кислот. Позже авторы [43] показали возможности его использования не только в режиме ИХ с подавлением, но и в режимах ГИХ и ОФ ВЭЖХ. Для оценки свойств сорбента в режиме ГИХ проводили тест Танака (табл. 1). Авторы отмечают, что $k(U)$ оказался достаточно большим — 7,2, что говорит об образовании толстого водного слоя на поверхности сорбента и возможности использовать его в режиме ГИХ. Предсказуемо фаза обладала очень низкой катионообменной селективностью $\alpha(SX)$. С другой стороны, анионообменная селективность $\alpha(AX)$, которую оценивают с использованием гидрофобного аниона п-толуолсульфоната, была достаточно высокой, что связано с удерживанием подобных аналитов на фазах на основе ароматических матриц не только за счет анионообменных, но и гидрофобных и π - π взаимодействий.

Очень высокое удерживание полярных аналитов на данной фазе не позволило экспрессно элюировать аналиты в ГИХ. Гиперразветвленный сорбент обеспечивал разделение 5 сахаров за 8 мин с эффективностью до 9000 тт/м, 7 водорастворимых витаминов за 40 мин с эффективностью до 11000 тт/м в градиентном режиме

элюирования (рис. 16а) и 6 аминокислот за 60 мин с эффективностью до 14000 тт/м. В режиме ОФ ВЭЖХ на данном сорбенте достигнуто разделение смеси 7 алкилбензолов за 28 мин (рис. 16б). Также в этой работе показали возможность разделить на таком сорбенте 20 анионов за 28 мин с эффективностью до 30000 тт/м, включая 7 стандартных неорганических анионов, бромат и анионы органических кислот (рис. 16в). Данный пример продемонстрировал, что подход к созданию анионообменников на основе ПС-ДВБ может быть перспективен при создании многофункциональных фаз, подходящих для ИХ с подавлением, ОФ ВЭЖХ и ГИХ.

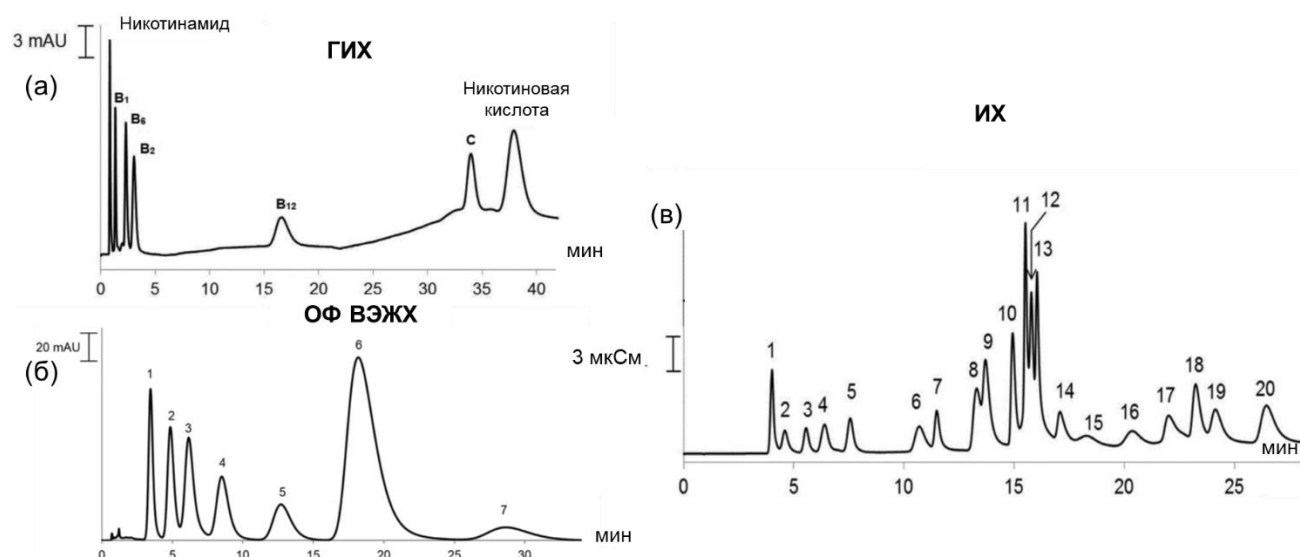


Рис. 16. Хроматограммы смесей витаминов в режиме ГИХ (а), алкилбензолов в режиме ОФ ВЭЖХ (б) и анионов в режиме ИХ с подавлением (в) на сорбенте с таурином во внутренней части гиперразветвленного слоя [43]. Подвижная фаза: (а) ацетонитрил – 100 мМ АФБ, рН 3,0, градиентное элюирование; (б) ацетонитрил – вода (65:35, об.%); (в) КОН, градиентное элюирование. Колонка: 100 × 4 мм. Скорость потока: 1 мл/мин. УФ-детектирование при 270 нм (а), 254 нм (б) и кондуктометрическое (в). Аналиты: (б) 1 – бензол, 2 – толуол, 3 – этилбензол, 4 – пропилбензол, 5 – бутилбензол, 6 – пентилбензол, 7 – гексилбензол; (в) 1 – фторид, 2 – хинат, 3 – гликолят, 4 – ацетат, 5 – формиат, 6 – пропионат, 7 – хлорид, 8 – пируват, 9 – бромат, 10 – нитрит, 11 – сульфат, 12 – малат, 13 – оксалат, 14 – бромид, 15 – фосфат, 16 – фумарат, 17 – нитрат, 18 – цитрат, 19 – изоцитрат, 20 – трансаконитат.

Таким образом, показано, что использование стабильных во всем диапазоне рН матриц для создания многофункциональных фаз может позволить расширить круг определяемых аналитов, в особенности при создании катионо- или анионообменников за счет возможностей их использования в режиме ИХ с подавлением с применением градиентного элюирования. В связи с повышенной степенью гидрофиллизации современных анионообменников, а также с устойчивостью

их основы к органическим растворителям, они могут выступать в роли эффективных многофункциональных фаз. При этом требуется выбор подходящего способа гидрофилизации и одновременного экранирования поверхности гидрофобной матрицы для обеспечения приемлемых факторов удерживания гидрофильных соединений в режиме ГИХ, а также высокой селективности и эффективности. Далее будут подробно рассмотрены современные способы гидрофилизации сорбентов для ИХ.

1.3. Способы гидрофилизации неподвижных фаз

Поскольку одной из целей работы является расширение области применения многофункциональных сорбентов для их использования в режиме ИХ с подавлением, то в данном разделе способы гидрофилизации будут преимущественно рассмотрены на примере анионообменников на основе полимерных матриц. Для выявления подходов к созданию сорбентов с наибольшей гидрофильностью необходимо выбрать способ ее оценки. Так как гидрофобность или гидрофильность анионообменников зависит от очень большого числа факторов, ее можно оценить только эмпирическими методами. В 2021 году [68] предложен подход к измерению гидрофобных свойств анионообменников: в качестве параметра гидрофобности применяли широко используемый в ОФ ВЭЖХ параметр — метиленовая селективность. Этот параметр получают путем измерения хроматографического удерживания ряда гомологов с линейной алкильной цепью. Авторы предлагают использовать в качестве гомологического рядов карбоновые и алкансульфоновые кислоты. Важно отметить, что для данного эксперимента необходимо отсутствие подавителя перед детектором, так как на нем могут дополнительно удерживаться гидрофобные аналиты. Данный подход универсален и позволяет сравнивать сорбенты как между собой, так и с коммерческими сорбентами, метиленовые селективности которых приведены авторами. Недостаток этого подхода заключается в том, что структура коммерческих фаз защищена патентами и остается неизвестной, а в научных работах, посвященных синтезу новых анионообменников, на данный момент эти параметры только начали появляться. В то же время результаты разделения смеси пяти стандартных неорганических анионов (F^- , Cl^- , NO_2^- , Br^- , NO_3^-) приводятся в большинстве статей. В связи с этим в данной работе для оценки гидрофильности анионообменников предложено использовать ряд селективностей. По снижению $\alpha(NO_3^-/Cl^-)$, $\alpha(ClO_3^-/Cl^-)$

и $\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{NO}_3^-)$ можно судить о снижении степени сшивки функционального слоя и повышении степени гидрофилизации сорбента [13,69–72], в то время как уменьшение $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$ указывает на снижение влияния неионообменных взаимодействий [15], а снижение $\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$ — на повышение степени экранирования ароматической матрицы [69,72,73].

Кроме того, так как наибольшее влияние гидрофобные взаимодействия с матрицей оказывают на удерживание сильнополяризуемых анионов, при оценке гидрофильности сорбентов также имеет смысл использовать параметры удерживания иодида, роданида и перхлората для оценки перспективности подходов к повышению степени гидрофилизации анионообменников. Также для исключения влияния качества упаковки колонок целесообразно нормировать эффективности неорганических анионов на эффективность по хлориду. При значительном вкладе в удерживание неионообменных взаимодействий наблюдается асимметрия пиков поляризуемых анионов и их низкая эффективность по сравнению с анионами, удерживаемыми лишь за счет электростатических взаимодействий, поэтому увеличение относительной эффективности поляризуемых анионов может быть еще одним подтверждением повышения гидрофильности сорбента.

Среди современных типов анионообменников наиболее распространены следующие [74]: химически модифицированные полимерные матрицы, сорбенты с гиперразветвленным функциональным слоем, непористые и ультрапористые сорбенты с электростатически агломерированными латексами, а также пористые сорбенты с привитым полимерным слоем (рис. 17). В связи с указанной выше необходимостью гидрофилизации поверхности полимерной матрицы, в данной работе интерес представляло рассмотрение разных типов сорбентов с точки зрения степени гидрофилизации и выявление оптимальных способов ее повышения.

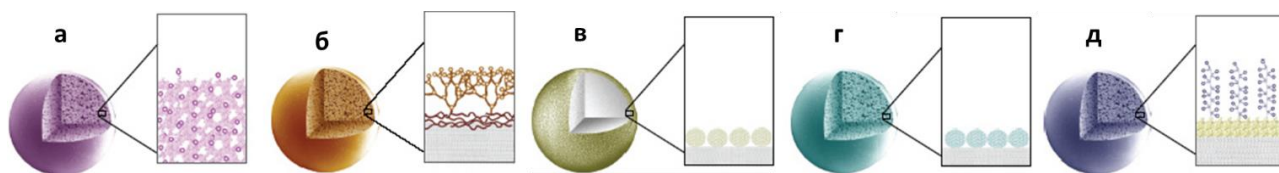


Рис. 17. Наиболее распространенные в современной ИХ типы неподвижных фаз. а – химически модифицированные полимерные матрицы, б – сорбенты с гиперразветвленным функциональным слоем, в – непористые матрицы с электростатически агломерированными латексами, г – ультрапористые сорбенты с электростатически агломерированными латексами, д – пористые сорбенты с привитым полимерным слоем [74].

1.3.1. Гидрофилизация единичных функциональных групп, закрепленных на поверхности матрицы

Простейшим вариантом получения анионообменников является химическое модифицирование поверхности матрицы с последующим введением единичных четвертичных аммониевых групп (рис. 17а). Однако, в процессе такого модифицирования сложно избежать образования функциональных групп внутри пор, в результате получаемые таким образом фазы зачастую характеризуются низкой эффективностью [3,17]. Для повышения эффективности химически модифицированных анионообменников предложены такие способы гидрофилизации, как:

- повышение гидрофильности функциональных центров, например, за счет использования гидрофильных кватернизирующих агентов [16] или за счёт использования гидрофильных аминов [75,76];
- удаление ионообменных центров от поверхности матрицы [77], в том числе за счёт гидрофильных спейсеров [78];
- разветвление функциональных слоев [75,78].

В ряде работ описаны фазы с единичными функциональными группами на основе ПС-ДВБ. Его аминирование проводили в статье [77] за счёт нитрования и восстановления нитрогрупп, после чего алкилировали аминогруппы иодометаном, либо алкилировали 1,6-дибромгексаном и аминировали триметиламином (ТМА). Таким образом, получали фазы с ионообменными центрами на поверхности и удаленными от нее. Использование спейсера позволило повысить абсолютную эффективность анионообменника. Данные по эффективности и селективности сорбентов, описанных в этом разделе, для удобства читателя собраны в таблицу в Приложении 1.

Более популярный, воспроизводимый и позволяющий избежать побочных реакций подход к модифицированию ПС-ДВБ — ацилирование уксусным ангидридом с последующим восстановительным аминированием гидрохлоридом МА [16,75,78] или ДМА [16,78], в результате которого получают вторичные и третичные аминогруппы, соответственно.

В работе [16] аминированный таким образом ПС-ДВБ алкилировали оксиранами и иодметанами и получили анионообменники, содержащие различное (0,

2 и 4) число гидроксильных групп в структуре ионообменного центра. С увеличением числа гидрофильных заместителей повышалась гидрофильность сорбента, о чем говорит снижение $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$ и $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$ и рост абсолютной эффективности хлорида и относительной эффективности нитрата. Однако несмотря на то, что для наиболее гидрофильных фаз удалось снизить вклад гидрофобных взаимодействий анионов с матрицей, даже удерживание 7 стандартных неорганических анионов все еще не определялось преимущественно ионным обменом.

Повысить эффективность и гидрофильность фаз на основе ПС-ДВБ с вторичными и третичными аминогруппами удалось авторам [78] с помощью алкилирования 1,4-БДДГЭ и аминирования ТМА. В результате получили фазы с разветвленным и линейным функциональными слоями. Анионообменник с разветвлённым функциональным слоем, который обеспечивает лучшее экранирование гидрофобной матрицы, характеризовался значительно большей гидрофильностью и эффективностью. Дополнительно улучшение характеристик подобных фаз описано в статье [75] и осуществлено за счёт замены ТМА на более гидрофильные амины — диметилэтанолламин (ДМЭА), метилдиэтанолламин (МДЭА) и триэтанолламин (ТЭА). Сорбент с ДМЭА обладал большей ионообменной ёмкостью по сравнению с анионообменником с ТМА (90 против 58 мкмоль/г), что вероятно связано с большей реакционной способностью гидрофильных аминов при протекании реакции в гидрофильных поверхностных слоях. В то же время для фаз с МДЭА и ТЭА наблюдались значительно меньшие значения ёмкости из-за их более стерически затруднённых структур и меньшей реакционной способности (36 и 39 мкмоль/г, соответственно).

Несмотря на значительное увеличение гидрофильности и эффективности, такие анионообменники подходили только для разделения 7 стандартных анионов и формиата и не позволяли элюировать за разумное время поляризуемые анионы даже в режиме градиентного элюирования (например, хлорат или иодид). Последнее, предположительно, связано с недостаточным экранированием гидрофобной поверхности матрицы разветвленным ионообменным слоем, что приводило к большому вкладу неионообменных взаимодействий в удерживание наименее гидратированных сильнополяризуемых анионов [69].

Синтез анионообменников на основе ГМА-ДВБ с функциональными группами на поверхности предложили авторы [76]. Сначала проводили аминирование эпокси-групп на поверхности матрицы с помощью МА, ДМА, ТМА, диэтиламина или триэтиламина. Продукты реакций с первичным МА или вторичными аминами кватернизовали с помощью 1,4-БДДГЭ. Таким образом, сорбенты с ТМА и ТЭА содержали только алкильные заместители у кватернизованного азота, сорбенты с ДМА и ДЭА — 2 алкильных и 1 алканольный, а с МА — 1 алкильный и 2 алканольных заместителя. Установлено, что длина и количество алканольных и алкильных групп оказывает значительное влияние на свойствах анионообменников, поскольку они определяют гидрофильность ионообменного центра.

Авторы [19] предложили подход к модифицированию сополимера аллилметакрилата и дивинилбензола или ЭВБ-ДВБ с помощью «тиол-еновой» клик-реакции между двойными связями на поверхности матриц с цистеамином. Продукт реакции последовательно обрабатывали 1,4-БДДГЭ и МДЭА и получали анионообменники средней гидрофильности, обеспечивающие разделение 5 стандартных анионов, а также ацетата, формиата и бромата за 20 мин.

Таким образом, для уменьшения негативных эффектов матрицы и получения наиболее гидрофильных сорбентов необходимо введение гидрофильного спейсера и гидрофильных заместителей в структуру отдельных функциональных групп на поверхности матрицы. Эти же подходы можно использовать при создании анионообменников с более сложными функциональными слоями, способными эффективнее экранировать поверхность матрицы. К тому же, только фазы со сложными функциональными слоями характеризуются высокой селективностью и разделяющей способностью.

1.3.2. Гидрофилизация сложных ионообменных слоев

Одним из популярных современных способов создания сорбентов для ИХ является постадийное наращивание полимерного функционального слоя на поверхности матрицы (рис. 17б). Впервые процесс создания гиперразветвленных слоев описан в варианте их электростатического закрепления в работе [72]. Сначала авторы проводили реакцию полимеризации МА и диглидилового эфира (в соотношении 1:1) в присутствии сульфированной матрицы, после чего образовавшийся преимущественно линейный положительно заряженный

полиэлектролит закрепляли на поверхности матрицы. Далее повторяли циклы модифицирования, состоящие из стадии алкилирования диглицидиловым эфиром и аминирования МА, и получали гиперразветвленный слой. Авторы отмечают, что синтезированные таким образом анионообменники демонстрируют низкий уровень гидрофобных взаимодействий между поляризуемыми анионами и матрицей. На это указывает хорошая форма пиков сильнополяризуемых анионов, например, перхлората. Тем не менее уже со второго цикла модифицирования могут образовываться сшивки соседних цепей, что приводит к снижению гидрофилизации функционального слоя и росту удерживания поляризуемых и слабо гидратированных анионов [69,71,72], что наглядно видно из роста $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$ с увеличением числа слоев от 3 до 5. Данные по селективности и эффективности сорбентов с электростатически закреплёнными функциональными слоями для удобства читателя собраны в таблицу в Приложении 2.

Подход к созданию гиперразветвленных слоев позволяет контролировать ёмкость и селективность неподвижных фаз за счёт выбора реагентов, используемых в различных циклах модифицирования и их положения в слое [70,72,79], количества циклов, а также температуры синтеза [70,72]. Например, замена классического 1,4-БДДГЭ на этиленгликольдиглицидиловый эфир в работе [72] привела к значительному повышению гидрофильности ионообменного слоя (Приложение 2). Это позволило экспрессно элюировать такие гидрофобные аналиты, как галогенуксусные кислоты, при этом трихлорацетат возможно элюировать раньше нитрата (рис. 18). В то же время замена МА на 2,2'-(этилендиокси)-бис-этиламин, осуществленная в [70], приводит к росту числа сшивок и значительному увеличению удерживания нитрата и хлората, а также снижению удерживания многозарядных анионов.

Несмотря на широкие возможности контроля селективности гиперразветвленных сорбентов, они часто характеризуются довольно низкой эффективностью (Приложение 2), а их синтез многостадийный, трудоемкий и длительный.

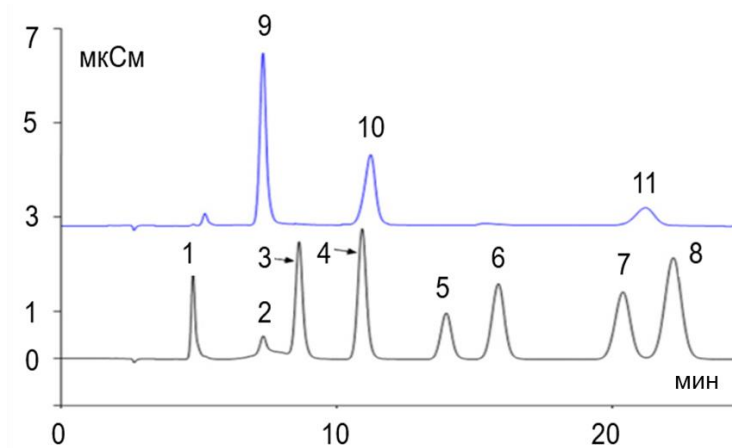


Рис. 18. Хроматограммы разделения однозарядных неорганических анионов и хлорацетатов на анионообменнике, гиперразветвленный слой которого содержит этиленгликольдиглицидиловый эфир. Колонка: 3 × 250 мм. Элюент: 10 мМ КОН. Скорость потока: 0,5 мл/мин. 1 – фторид, 2 – хлорит, 3 – бромат, 4 – хлорид, 5 – нитрит, 6 – хлорат, 7 – бромид, 8 – нитрат, 9 – монохлорацетат, 10 – дихлорацетат, 11 – трихлорацетат [72].

Подход к созданию гиперразветвленных слоев нашел применение в работах, посвященных синтезу латекс-агломерированных фаз (рис. 17в, 17г). Принцип создания латекс-агломерированных фаз — закрепление латексов на поверхности отрицательно-заряженной матрицы за счёт электростатических и Ван-Дер-Ваальсовых взаимодействий. В теории может образовываться до нескольких сотен электростатических связей на один латекс, что гарантирует достаточную стабильность подобных фаз даже при длительной эксплуатации [80]. Развитие ИХ началось с создания непористых сорбентов с электростатически агломерированными латексами (рис. 17в) [81], которые теперь в виду своей невысокой ёмкости используются в коммерческом синтезе при создании защитных и концентрирующих колонок [82], а на смену им в качестве аналитических колонок пришли ультрапористые сорбенты с электростатически агломерированными латексами высокой ёмкости (рис. 17г). Отличие ультрапористых латексных анионообменников от непористых в том, что при использовании матрицы с размером пор 100–300 нм латексы также могут агломерироваться внутри пор. В результате за счёт использования ультрапористых матриц возможно получать фазы с высокой емкостью, подходящие для анализа образцов с высокими концентрациями [3].

В то же время в научных работах все ещё преимущественно отдают предпочтение первому типу латекс-агломерированных фаз на основе матриц с небольшим размером пор [83–86]. В качестве латексов могут выступать

модифицированные наноалмазы [87], углеродные наносферы [83–85], нанослой графитоподобного нитрида углерода ($g\text{-C}_3\text{N}_4$) [88], углеродные нанотрубки [89] и т.д. В подавляющем большинстве случаев модифицирование латексов осуществляют за счёт ковалентного закрепления на их поверхности гиперразветвленного слоя [83,84,87–89].

В одной из самых последних работ [85] гидрофильные ультрамалые углеродные сферы, полученные из фруктозы методом гидротермальной карбонизации, модифицировали с помощью реакции между карбоксильной группой и аминогруппой полиамидоamina. Для получения анионообменника оставшиеся аминогруппы кватернизовали глицидолом и закрепляли на сульфированной ПС-ДВБ. Полученный сорбент характеризовался высокой гидрофильностью и эффективностью (Приложение 2) и обеспечивал разделение 13 анионов в изократическом режиме за 9 мин (рис. 19а), а также экспрессное разделение сильнополяризуемых анионов (рис. 19б): за 7 мин удается элюировать тиосульфат, иодид, роданид и перхлорат с высокой эффективностью (62000 тт/м для иодида, 58000 тт/м для роданида и 55500 тт/м для перхлората) и хорошей симметрией (коэффициенты асимметрии не превышают 1,2).

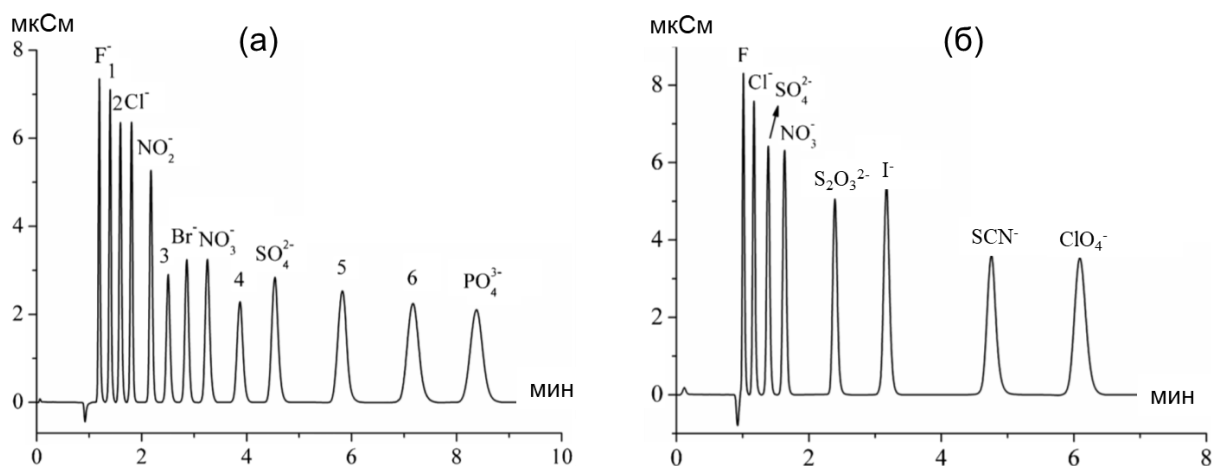


Рис. 19. Хроматограмма разделения модельных смеси неорганических и органических анионов (а) и смеси стандартных и сильнополяризуемых анионов (б) на сорбенте, агломерированном углеродными сферами [85]. Элюент: (а) 8,6 мМ КОН; (б) 18,3 мМ КОН. Скорость потока: 1 мл/мин. 1 – формиат, 2 – валерат, 3 – трифторацетат, 4 – малонат, 5 – оксалат, 6 – кетомалонат.

Одним из простейших способов получения анионообменников является синтез полиэлектролитных фаз, который заключается в электростатическом закреплении на сульфированной матрице положительно заряженных полимеров с четвертичными атомами азота в основной цепи [3,90–93]. Синтез таких сорбентов осуществляется

быстро и достаточно просто, а их селективностью можно управлять, изменяя структуру функциональных групп в цепи полиэлектролита. Однако, такие фазы обладают низкой стабильностью при длительном использовании, а из-за возможности изменения конформации полиэлектролита в процессе эксплуатации возможно снижение ионообменной ёмкости и селективности [3,93]. Для некоторых полиэлектролитных фаз на основе силикагеля сообщалось об элюировании бромата до хлорида при использовании бензоатного элюента и УФ-детектирования [91], однако, такие фазы не подходили для ИХ с подавлением и характеризовались довольно низкой эффективностью — до 15000 тт/м (Приложение 2). В другой работе [90] получали фазы на основе ПС-ДВБ, которые в режиме ИХ с подавлением позволили поделить 7 стандартных анионов за 40 мин с высокой эффективностью, при этом на них бромат удерживался дольше хлорида.

Более перспективным способом закрепления сложных функциональных слоев с точки зрения синтеза многофункциональных фаз является ковалентное закрепление. Довольно много работ, вышедших за последнее десятилетие, посвящено созданию фаз с ковалентно закрепленными гиперразветвленными слоями. Данные по селективности и эффективности некоторых из них представлены в Приложении 3. Наиболее гидрофильные из них (характеризующиеся наименьшими $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$ и $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$) — сорбенты на основе гидрофильных матриц — силикагеля [94], метакрилатной матрицы [95], углеродных сфер, полученных из сахарозы [96], а также на основе ПС-ДВБ, на поверхности которого полимеризовали ГМА [97]. Кроме того, вне зависимости от матрицы, с увеличением числа слоев возрастают $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$ и $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$. Как и для фаз с электростатически закрепленными гиперразветвленными слоями, это связано с образованием сшивок между соседними цепями [19,69,76,98]. В то же время, с увеличением числа циклов модифицирования снижается $\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$, что говорит о повышении степени экранирования матрицы с помощью гиперразветвленного слоя [19,69,98].

Как отмечалось выше, регулировать селективность гиперразветвленных фаз можно за счет выбора реагентов. Например, в работе [98] во внутреннюю часть гиперразветвленного слоя вводили отрицательно заряженные фрагменты для предотвращения диффузии анионов в поры полимерной матрицы за счет электростатического отталкивания. Этот подход реализовали с помощью замены МА

в первых циклах модифицирования на аминокислоту — глицин. Авторы продемонстрировали, что 5-слойная фаза с глицином в 1-ом слое обладает повышенной селективностью, в особенности по отношению к органическим кислотам. На ней удалось поделить смесь 22 анионов за 58 мин, включая 7 стандартных анионов, оксогалогениды, анионы одноосновных, двухосновных и трехосновных органических кислот. В своей следующей работе [67] та же группа авторов изучила влияние замены глицина на этаноламин или аминосульфокислоту — таурин. Выявлено, что структура отрицательно заряженного фрагмента не оказывает влияния на селективность в режиме ИХ — оба сорбента с глицином и таурином превосходили по селективности фазу с этаноламином. Кроме того, фазу с таурином, как уже упоминалось в разделе 1.2.4., можно использовать для работы в режиме ГИХ и ОФ ВЭЖХ (рис. 16) [43].

В работе 2023 года [71] предложен новый подход к модифицированию ЭВБ-ДВБ за счёт полимеризации N-винилформамида на поверхности матрицы в метаноле с последующим гидролизом привитого амидного полимера (рис. 20а). Выбор высокополярного мономера гарантирует его нерастворимость внутри частиц матрицы, а выбор высокополярного растворителя — отсутствие их набухания. Данный подход позволяет ограничить процесс прививки поверхностью зерен, и в последствии функциональный слой закрепляется лишь на поверхности, не заходя в поры, а следовательно, ионообменные центры имеют более гидратированное и гидрофильное окружение. В результате получали цепи с множественными первичными аминогруппами, которые служили точками закрепления гиперразветвленных слоев из 1,4-БДЦГЭ и МА или 1,3-диаминопропана. Полученные сорбенты (от 2 до 6 слоев) позволяли элюировать бромат до хлорида, а хлорат до нитрата (рис. 20б). Это является нехарактерным для ковалентно привитых фаз и говорит о высокой степени гидрофилизации и экранирования матрицы [7].

Несмотря на достоинства гиперразветвленных фаз, к их существенным недостаткам можно отнести трудоёмкий и долгий многостадийный синтез. Кроме того, побочные реакции образования сшивок снижают гидрофилизацию функционального слоя, что может неблагоприятно сказаться при использовании таких фаз для определения сильнополяризуемых анионов, а также в режиме ГИХ. Зачастую лишены этих недостатков анионообменники с привитыми полимерными

слоями (рис. 17д), поскольку при их получении можно обеспечить создание пелликулярного функционального слоя на поверхности матрицы. Такой слой не только экранирует гидрофобную матрицу, но и удаляет ионообменные центры от неё, что должно привести к снижению адсорбционных взаимодействий и повышению эффективности [3,4]. Данные по селективности и эффективности сорбентов с привитыми полимерными слоями для удобства читателя собраны в таблицу в Приложении 4.

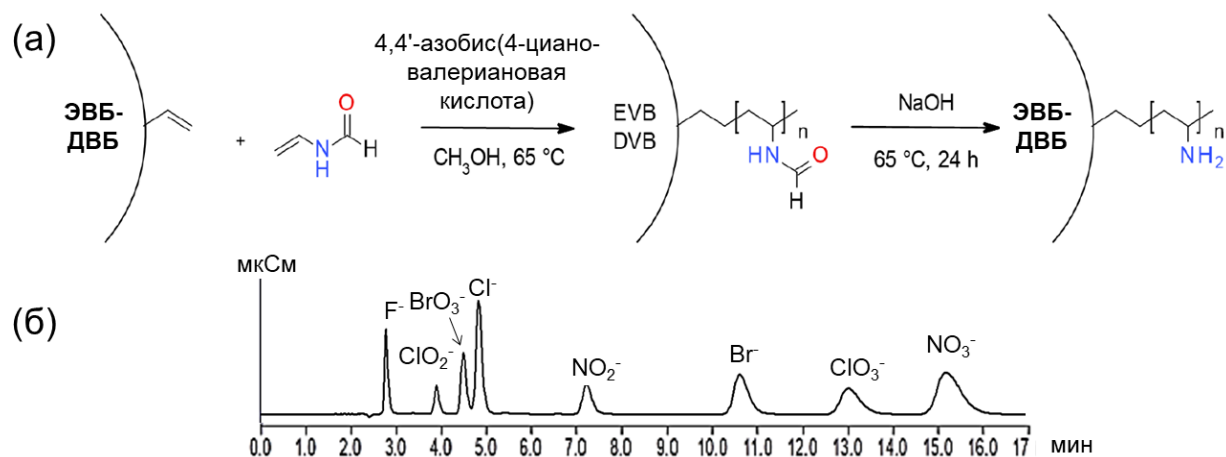


Рис. 20. Способ модифицирования ЭВБ-ДВБ за счёт полимеризации N-винилформамида (а) и хроматограмма разделения неорганических анионов на сорбенте на его основе с 5 слоями из МА и 1,4-БДДГЭ (б) [71].

В статье [99] синтезировали анионообменники на основе ГМА-ДВБ за счет прививки полиаминов разной разветвленности (этилендиамин, диэтилентриамин, триэтилентетрамин и тетраэтиленпентамин), их последующего алкилирования 1,4-БДДГЭ и аминирования МДЭА. С увеличением разветвленности полиамина снижалась гидрофильность сорбента, о чем свидетельствуют $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$ и $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$. Авторы [100,101] получали сорбенты на поверхности ПС-ДВБ с помощью свободно-радикальной полимеризации мономера, предварительно полученного из 4-винилбензилхлорида и МДЭА. Установлено, что с увеличением количества добавленного мономера ёмкость полученных анионообменников возрастает, а потом перестаёт значительно изменяться. Это связано с расходом мономера в конкурентном процессе — гомополимеризации. Кроме того, с повышением ёмкости снижается гидрофильность фазы, однако возрастает степень экранирования матрицы. Такие сорбенты характеризовались высокой эффективностью — до 39000 тт/м для нитрата и 59000 тт/м для сульфата [100], однако не позволяли элюировать бромат до хлорида [101].

В работах [102,103] синтезировали сорбенты на основе ГМА-ДВБ посредством полимеризации с остаточными двойными связями мономеров, содержащих четвертичные аммониевые группы. Для повышения гидрофильности дополнительно проводили гидролиз эпокси-колец ГМА-ДВБ, что позволяло значительно улучшить форму пиков и повысить эффективность. Сорбент, полученный в [103], обеспечивал разделение 7 стандартных анионов и 3 оксогалогенидов за 30 мин с использованием карбонатного элюента.

На всех описанных выше сорбентах с привитыми слоями (даже на основе более гидрофильного ГМА-ДВБ) бромат элюировался после хлорида. Снизить удерживание бромата можно за счёт повышения степени экранирования матрицы. Так авторы [104] впервые предложили прививать разветвленный ПЭИ на поверхность аминированного ПС-ДВБ с помощью 1,4-БДДГЭ в качестве спейсера, а затем кватернизовать его аминогруппы с помощью различных эпоксидов. При выборе в качестве эпоксида глицидола получали сорбент ВРЕИ-Г1, при выборе 1,4-БДДГЭ — ВРЕИ-В. За счёт выбора кватернизирующего агента можно значительно варьировать селективность фаз, поскольку глицидол обеспечивает образование гидрофильных ионообменных центров, а 1,4-БДДГЭ также служит сшивающим агентом и снижает гидрофильность слоя. Интересно, что обе фазы характеризуются небольшими $\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$, что свидетельствует об основном вкладе ПЭИ в экранирование матрицы. Анионообменник ВРЕИ-Г1 подходил для разделения стандартных анионов, слабоудерживаемых анионов и сильноудерживаемых поляризуемых анионов и, упакованный в колонку размером 100 × 4 мм, в градиентном режиме обеспечивал разделение 16-ти анионов, включая иодид и роданид (рис. 21).

Еще один пример использования сочетания ПЭИ и эпоксида для экранирования матрицы — это работа [105], в которой его прививали на ГМА-ДВБ, а затем кватернизовали одним из эпоксидов (эпоксипропан, глицидол или 1,4-БДДГЭ). Также, как и в работах [102,103], авторы показали, что гидролиз оставшихся на поверхности матрицы эпоксидных групп позволяет существенно повысить гидрофильность фазы. Сорбент с 1,4-БДДГЭ продемонстрировал лучшую форму пиков и разрешение, характеризовался достаточно высокой гидрофильностью и подходил для разделения сильнополяризуемых анионов. С использованием в качестве элюента 13 мМ KHCO_3 на нем удалось разделить за 16 мин стандартные анионы, а

также иодид и роданид с высокой эффективностью (23000 и 20000 тт/м, соответственно).

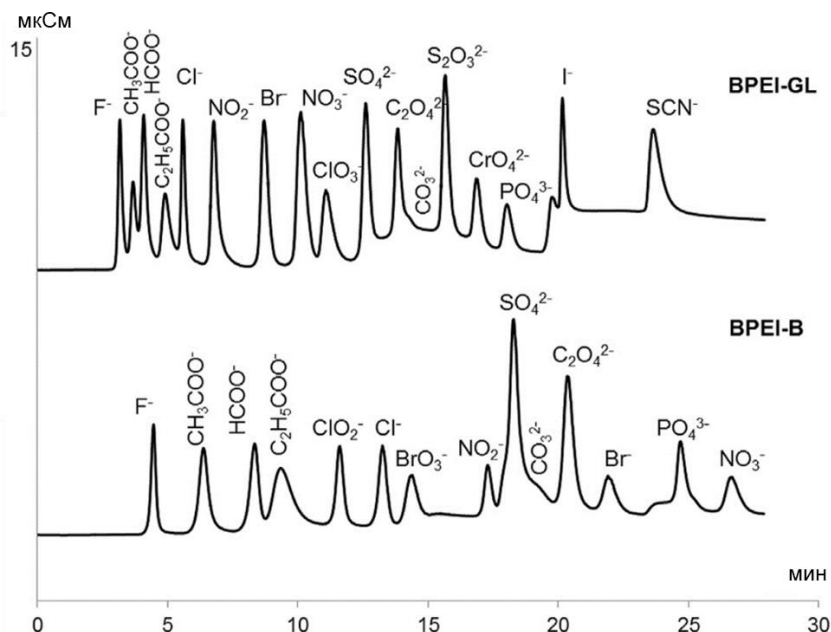


Рис. 21. Хроматограммы модельных смесей неорганических и органических анионов на сорбентах с кватернизованным ПЭИ. Элюент: КОН, градиентное элюирование. Колонка: 150 × 4,6 мм. Скорость потока: 1,0 мл/мин [104].

Авторы [106,107] получали фазы за счет ковалентного закрепления на поверхности аминированного ЭВБ-ДВБ полиэлектролитов, образующихся *in situ* в результате одностадийной эпоксиаминной полимеризации. Модифицирование ЭВБ-ДВБ проводили с помощью клик-реакции с цистеамином аналогично [19], после чего к аминированной матрице добавляли смесь 1,4-БДДГЭ и амина — метилэтанолamina (МЭА) или бис(2-диметиламиноэтил)эфира (БДМАЭЭ). Анионообменник, полученный с использованием МЭА, демонстрировал отличную эффективность по поляризуемым анионам и обеспечивал разделение 7 стандартных неорганических анионов и 4 сильнополяризуемых анионов (иодида, тиосульфата, тиоцианата и перхлората) в градиентном режиме за 13 мин [106]. Кроме того, фаза с диамином обладала высокой разделяющей способностью и обеспечивала в градиентном режиме разделение 25 анионов, включая неорганические анионы, оксогалогениды, алифатические и ароматических кислоты (рис. 22). Данный подход позволяет уменьшить неионообменные взаимодействия менее гидратированных сильнополяризуемых анионов с гидрофобной матрицей.

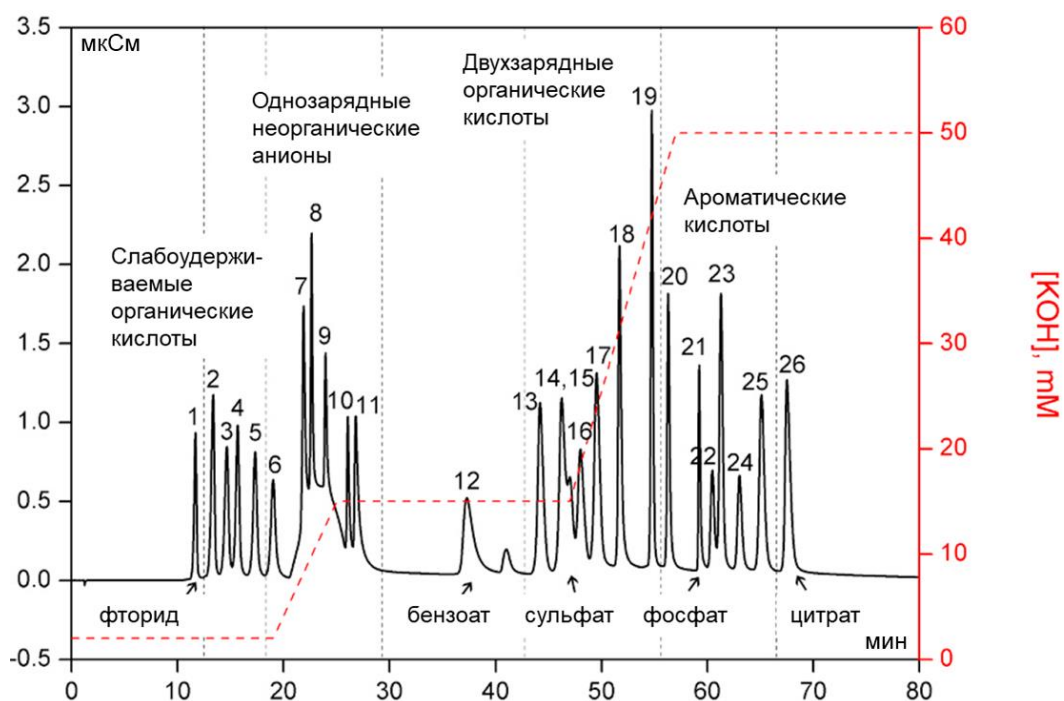


Рис. 22. Хроматограмма смеси анионов на анионообменнике с привитым полиэлектролитом, содержащим БДМАЭЭ. Элюент: КОН, градиентное элюирование. Колонка: 150 × 4,6 мм. Скорость потока: 1 мл/мин. 1 – фторид, 2 – ацетат, 3 – пропионат, 4 – формиат, 5 – метансульфонат, 6 – хлорит, 7 – бромат, 8 – хлорид, 9 – нитрит, 10 – бромид, 11 – нитрат, 12 – бензоат, 13 – метилмалонат, 14 – малат, 15 – сульфат, 16 – малеат, 17 – итаконат, 18 – оксалат, 19 – фумарат, 20 – фталат, 21 – фосфат, 22 – п-гидроксибензоат, 23 – терефталат, 24 – м-гидроксибензоат, 25 – изофталат, 26 – цитрат [106].

Таким образом, создание сложного ионообменного слоя позволяет наиболее полно экранировать матрицу и гидрофилизовать сорбент. Несмотря на высокую степень экранирования, обеспечиваемую гиперразветвленными анионообменными слоями, из-за наличия сшивок их собственная гидрофильность невысока. Сорбенты с латексным функциональным слоем, напротив, отличаются высокой степенью гидрофилизации. Гидрофильность сорбента с привитыми полиэлектролитными цепями сильно зависит от его структуры. Кроме того, перспективным является подход экранирования матрицы с помощью ПЭИ, кватернизованного эпоксидом (в частности, глицидолом).

1.3.3. Дополнительное повышение степени гидрофилизации анионообменников

Большинство неподвижных фаз, подходящих для работы с гидроксидным элюентом, содержат гидроксильную группу в β -положении к четвертичному атому азота. Модифицирование этой гидроксильной группы ионообменного центра может позволить управлять селективностью полученного сорбента. Так, в работе [73]

предложено обрабатывать сорбенты глицидолом с целью управления их селективностью (рис. 23).

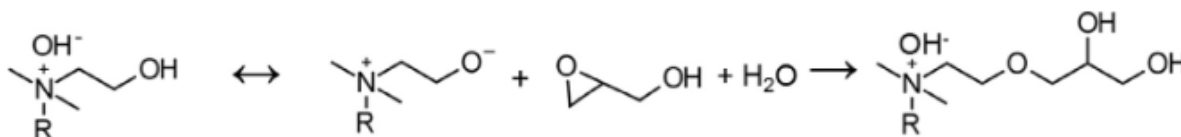


Рис. 23. Механизм реакции глицидола с функциональными группами, содержащими β -гидроксил [73].

Автором изучено влияние обработки глицидолом на селективность коммерческих сорбентов (Thermo Fisher Scientific, США), среди которых были как сорбенты с латексным функциональным слоем, так и сорбент с электростатически закрепленным гиперразветвленным слоем, а также сорбент с ковалентно закрепленным привитым функциональным слоем (IonPac AS15). В работе продемонстрировано значительное изменение селективности по отношению к слабо гидратированным оксогалогенидам для тех сорбентов, где до обработки глицидолом могло наблюдаться значительное влияние полимерной матрицы на их удерживание. Так, для анионообменника IonPac AS15 наблюдается последовательное уменьшение относительного удерживания хлората и бромата. Если до обработки глицидолом можно было наблюдать разделение бромата и хлорида до базовой линии, то при последовательной обработке глицидолом наблюдается сначала их совместное элюирование, а затем изменение порядка элюирования. Удерживание хлората также значительно снижается, в результате селективность пары хлорат/нитрат резко уменьшается. Помимо этого, изучено влияние температуры и количества глицидола на хроматографические свойства сорбента IonPac AS19 и установлено, что эффект от увеличения температуры на 10°C (с 60 до 70°C) сходен с эффектом от увеличения концентрации глицидола в два раза.

Кроме того, известна [108–111] способность глицидола к полимеризации. За счет выбора условий реакции алкилирования можно варьировать соотношение между количествами глицидола, участвующими в процессах кватернизации и полимеризации при его использовании в качестве кватернизирующего агента. Полимеризацию глицидола ранее осуществляли на поверхности силикагеля [112,113] и ГМА-ДВБ [114] при создании неподвижных фаз для работы в режиме ГИХ.

Еще одним способом повышения степени гидрофилизации неподвижных фаз является использование более гидрофильных матриц, например, ГМА-ДВБ

[102,103,105]. Однако сорбенты на их основе зачастую устойчивы лишь в диапазоне рН от 1 до 12, что ограничивает их применение в режиме ИХ с подавлением карбонат-гидрокарбонатным элюентом [3,4]. Авторы работы [96] получали фазы на основе высоко гидрофильных монодисперсных углеродсодержащих наносфер, одна из которых позволила разделить сильнополяризуемые анионы за приемлемое время с хорошей формой пиков с использованием в качестве элюента КОН низкой концентрации. Однако такие анионообменники не получили широкого распространения в ИХ. Это может быть связано с отсутствием данных о влиянии органических растворителей на них, а также их гидролитической и механической устойчивости. Кроме того, они обладают низкой эффективностью (Приложение 3), которая, возможно, свидетельствует о трудности получения сферических частиц.

В то же время ПС-ДВБ с высокой степенью сшивки широко используется как матрица для сорбентов в ИХ в связи с его устойчивостью во всем диапазоне рН, механической прочностью и возможностью использовать со 100% органическими растворителями. Перспективным способом повышения его гидрофильности представляется окисление остаточных двойных связей на поверхности полимера до эпоксидных группы [115]. Эти группы легко подвергаются аминированию с целью дальнейшего закрепления ионообменного слоя необходимой структуры. Кроме того, данный способ модифицирования позволяет дополнительно экранировать поверхность матрицы и повысить степень ее гидрофиллизации за счет гидролиза непрореагировавших с амином эпокси-групп [66,103].

В литературе описаны различные методики эпоксидирования органических полимеров. В работе [115] сравнивали эпоксидирование ЭВБ-ДВБ с помощью м-ХПБК и диметилдиоксирана. В качестве растворителей для эпоксидирования м-ХПБК использовали смесь дихлорметан/вода (2:1) или безводные растворители (хлороформ, дихлорметан, толуол). Авторы отмечают, что только окисление с помощью диметилдиоксирана обеспечивает полное эпоксидирование двойных связей, однако окисление м-ХПБК в дихлорметане также протекает с высоким выходом. В работе [116] рассмотрены различные способы эпоксидирования блок-сополимеров стирола/бутадиена: окисление м-ХПБК в дихлорметане, надуксусной кислотой в дихлорметане, гексафторизопропанолом в хлороформе. Выявлено, что с практической точки зрения м-ХПБК является оптимальным средством для

эпоксицирования, что связано с небольшой продолжительностью синтеза, его стоимостью и легкостью регулирования условий реакции. Авторы [117] успешно применили эпоксицирование м-ХПБК в хлороформе для эпоксицирования 1,4-полимирцена, а также установили, что полученные эпокси-группы легко гидролизуются под действием кислоты.

В патенте [64] описан способ повышения гидрофильности фаз на основе ПС-ДВБ за счёт окисления двойных связей с помощью надкислот, а также перманганата калия, кислородной плазмы или сочетания этих способов. После этого полученные эпоксидные кольца гидролизовали и модифицировали с помощью эпихлоргидрина, бутандиола, 1,4-БДДГЭ, многократно повторяя реакции с ними, а концевые оксирановые кольца в итоге раскрывали третичным амином с целью получения анионообменника. Полученные таким образом сорбенты характеризовались высокой гидрофильностью, эффективностью и симметрией пиков, в том числе поляризуемых и слабо гидратированных анионов. Данный подход к гидрофилизации ПС-ДВБ применили в работе [63], посвященной созданию многофункциональных катионообменников, описанных в разделе 1.2.4.

Таким образом, применение глицидола является перспективным для повышения степени гидрофилизации анионообменного слоя неподвижной фазы и обеспечения лучшего экранирования гидрофобной поверхности матрицы за счёт его полимеризации. Также повышение гидрофильности сорбента с сохранением высокой химической стабильности неподвижных фаз на основе ПС-ДВБ возможно за счёт модифицирования двойных связей на его поверхности, например, окисляя их до эпокси-групп.

Из представленных литературных данных можно сделать вывод, что для получения высокоэффективного и селективного многофункционального сорбента, подходящего для работы как в режиме ИХ с подавлением, так и в ГИХ, необходимо:

- 1) использовать в качестве матрицы ПС-ДВБ или ЭВБ-ДВБ с высокой степенью сшивки и малым размером частиц,
- 2) выбрать способ модифицирования ПС-ДВБ, позволяющий ограничить процесс модифицирования поверхностью матрицы,

- 3) экранировать матрицу с помощью прививки полимерных функциональных слоев на ее поверхность,
- 4) повышать степень гидрофилизации за счёт использования гидрофильных реагентов для создания функционального слоя;
- 5) дополнительно повышать степень экранирования матрицы за счёт полимеризации глицидола в щелочной среде.

Исходя из представленных данных, с точки зрения повышения гидрофильности и простоты синтеза наиболее перспективными подходами являются: прививка полиэлектролитов, получаемых *in situ* из вторичного амина и диэпоксида, либо прививка с помощью гидрофильного спейсера полиамина, например, ПЭИ, с его последующей кватернизацией. В качестве кватернизирующего агента должен выступать гидрофильный глицидол, полимеризацию которого можно активировать во время синтеза для повышения гидрофильности сорбента и степени экранирования матрицы. В рамках обоих подходов, интерес представляет изучение и оптимизация условий синтеза, таких как количество реагентов, температура и продолжительность, так как они могут позволить контролировать ёмкость, гидрофильность и селективностью получаемых фаз.

В качестве нового способа модифицирования ПС-ДВБ предлагается окисление двойных связей на его поверхности с целью получения гидрофильной точки закрепления для последующей прививки полимеров, а также для дополнительной гидрофилизации поверхности матрицы за счет гидролиза эпоксидных колец, не использованных для закрепления функциональных групп.

ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Аппаратура

Эксперименты проводили на жидкостном хроматографе Dionex ICS-3000 (Thermo Fisher Scientific, США) с градиентным насосом, кондуктометрическим детектором, генератором элюента и электромембранным подавителем фонового сигнала; на жидкостном хроматографе Dionex ICS-2100 (Thermo Fisher Scientific, США) с изократическим насосом, кондуктометрическим детектором, генератором элюента и электромембранным подавителем фонового сигнала; на жидкостном хроматографе 850 Professional IC (Metrohm, Швейцария) с изократическим насосом, кондуктометрическим детектором и системой химического подавления фонового сигнала; на жидкостном хроматографе Dionex ICS-1600 (Thermo Fisher Scientific, США) с изократическим насосом, кондуктометрическим детектором и электромембранным подавителем фонового сигнала; на жидкостном хроматографе Dionex 3000 (Thermo Fisher Scientific, США) с двухканальным градиентным насосом, автоматической системой ввода пробы, термостатом колонки и диодно-матричным детектором; на жидкостном хроматографе Vanquish Flex (Thermo Fisher Scientific, США) с флуоресцентным детектором FLD и диодно-матричным детектором DAD; на хроматографе, состоящем из изократического ВЭЖХ насоса Shimadzu LC-20ADSP (Shimadzu, Япония), шестипортового крана-дозатора и рефрактометрического детектора (Agilent Technologies, США); с использованием системы, состоящей из жидкостного хроматографа Agilent 1260 (Agilent, США) и гибридного времяпролетного масс-спектрометра Bruker Maxis Impact (Bruker Scientific, США). Система ГХ-МС Agilent GC (8890)-MS (5977B) (Agilent Technologies, США) состоящая из моноквадрупольного МС детектора (режим сканирования 35-500 m/z) с источником электронной ионизации (230°C), термостата колонки, охлаждаемого узла ввода пробы, термодесорбера (TDU 2) и автоматической роботизированной системой ввода пробы (Gerstel, Германия) и линии подачи газов (He, 1 мл/мин). Задержка детектирования при вводе пробы — 1.5 мин. Колонка: две соединенные последовательно колонки HP-5MS 15 м × 0.25 мм, 0.25 мкм (Agilent Technologies, США). Стекловолоконные термодесорбционные трубки (5×0.5 см). Кварцевая стекловата ЧДА (TRAJAN, Австралия).

Сбор и обработку хроматографических данных проводили с использованием программного обеспечения «Chromeleon 6.8», «Chromeleon 7.0», «Chromeleon 7.3» (Thermo Fisher Scientific, США), «MagIC Net 3.0» (Metrohm, Швейцария), ChemStation (Agilent Technologies, США).

В процессе синтезов использовали следующее оборудование: термостат («Mettmert», Германия), химический реактор («Akiko», Китай), вакуумный насос серии «Laborport» («KNF Neuberger», Германия), ультразвуковую ванну «Сапфир 6580» («Сапфир», Россия), механическую мешалку «Eurostar» («IKA-Werke», Германия), шейкер-инкубатор «New Brunswick Innova 44» (Eppendorf, США), универсальный шейкер LOIP LS-120 («ЛОИП», Россия).

В работе использовали стальные колонки размером 100 × 4 мм. Заполнение хроматографических колонок осуществляли при помощи насоса «Knauer K-1900» («Knauer», Германия) при давлении 400 бар. Тестирование колонок проводили при температуре 25°C; при использовании других температур соответствующие условия обозначены в подписях к таблицам и рисункам.

2.2. Реактивы и материалы

В качестве матрицы для синтеза сорбентов использовали ПС-ДВБ со степенью сшивки 50%, средним диаметром зерен $5,5 \pm 0,5$ мкм, площадью поверхности 650 м²/г, средний объём пор 0,6 см³/г и средним диаметром пор 4 нм.

Для проведения синтезов использовали следующие реактивы и растворители: дихлорэтан (х.ч.) («ЭКОС-1», Россия), метиламин (38%-ный раствор в метаноле) («ТСІ», Япония), соляная кислота (х.ч.), гидроксид натрия (х.ч.) («Химмед», Россия), диметиламин (40% водный раствор), нитрат натрия (>99,0%) («Merck», Германия), метанол (ч.д.а.), этанол (ч.д.а.) («Лабтех», Россия), метилен хлористый (х.ч.), хлорид алюминия (99%), уксусный ангидрид ($\geq 99,0\%$), гидрохлорид метиламина (99,9%), цианоборогидрид натрия (99,9%), триметиламин (45%-ный водный раствор), глицидол (>96,0%), 1,4-бутандиолдиглицидиловый эфир (>96,0%), полиэтиленимин (Mw~800), диметилэтанолламин (99,5%), мета-хлорпербензойная кислота (77%) («Sigma-Aldrich», США). («Merck», Германия)

Для приготовления подвижных фаз и растворов аналитов использовали деионизованную воду и реактивы следующей квалификации: карбонат натрия, гидрофторид натрия, хлорид натрия, нитрит натрия, бромид калия, сульфат калия,

дигидрофосфат натрия, тиосульфат натрия, сульфит натрия, оксалат аммония, ацетат натрия, хлорит натрия, молибдат натрия дигидрат, хлорат натрия, роданид калия, этанол, ацетат аммония, ацетон (все х.ч. или ч.д.а.) («Химмед» и «Лабтех», Россия), толуол, бензол (все х.ч.) («Компонент-Реактив», Россия), вольфрамат калия (х.ч.) («Реахим», Россия), кислота уксусная ледяная, кислота ортофосфорная, хлорид калия, хинная кислота, глюконовая кислота, гликолевая кислота, формиат натрия, галактурононовая кислота, яблочная кислота, малеиновая кислота, сукцинат натрия, молочная кислота, этансульфонат натрия, 1-пропансульфонат натрия, 1-бутансульфонат натрия, 1-пентансульфонат натрия (все х.ч. или ч.д.а.) («Panreac», Испания), бромат натрия, пропионат натрия (ч.д.а.) («AppliChem», Германия), нитрат натрия, глутаровая кислота, фумаровая кислота (ч.д.а.) («Merk», Германия), хлоруксусная кислота, дибромуксусная кислота, иодид натрия, селенит натрия (все 99%) («Sigma-Aldrich», США), трихлоруксусная кислота, дихлоруксусная кислота (все $\geq 99,0\%$) («Sigma-Aldrich», Германия), бромуксусная кислота (99%) («Sigma-Aldrich», Израиль), глифосат, двузамещенный гипофосфит натрия моногидрат, дихромат калия ($\geq 99,0\%$) («Sigma-Aldrich», Швейцария), бутилфосфоновая кислота («Sigma-Aldrich», США), трет-бутилфосфоновая кислота (98%) («Sigma-Aldrich», Словакия), 3-(гидроксиметилфосфинил)пропиононовая кислота («Sigma-Aldrich», Германия), селенат натрия, двузамещенный арсенат натрия гептагидрат ($\geq 98,0\%$) («Sigma-Aldrich», Италия), малоновая кислота (99%) («Sigma-Aldrich», Япония), тетрафтороборат натрия, фосфит натрия пентагидрат, пировиноградная кислота (все 98%), тимидин, аденин, цитозин, цитидин, гуанин, ксантин (все 99%) («Sigma-Aldrich», Китай), бутират натрия (98%), формиат аммония (97%) («Sigma-Aldrich», Индия), перхлорат натрия моногидрат ($\geq 98,0\%$) («Sigma-Aldrich», Франция), глюконовая кислота ($> 99,0\%$), D,L-фенилаланин, L-пролин, D,L-серин, L-метионин (все х.ч.) («Serva», Германия), никотинамид (B₃ амид), 99.7%; кислота никотиновая (B₃ к-та), гидроксид калия (водный раствор 45% масс.) («Sigma-Aldrich», США), тимин, гуанозин (все 98%) («Sigma-Aldrich», Великобритания), аденозин, урацил, теобромин, теофиллин, уридин, видарабина моногидрат, 5-метилуридин, 2'-дезоксинуридин, триметилфенил-аммония хлорид, D-(+)-рибоза, D-(+)-глюкоза, D-(+)-фруктоза, D (+)-лактозы моногидрат, D-(+)-мальтозы моногидрат, D-(+)-сахароза, D-(+)-ксилоза, D-(+)-раффинозы пентагидрат, рибофлавин (B₂), пиридоксина

гидрохлорид (В₆), аскорбиновая кислота, тиамин (В₁) (все 98%), цианокобаламин (В₁₂), ч.д.а., п-толуолсульфонат натрия («ТСИ», Япония), L-аспарагин, аланин (все х.ч.), L-тирозин (>98%) («Merck», Германия), L-глутамин, L-валин (х.ч.) («Reanal», Венгрия), ацетонитрил («HPLCgradientgrade», «Panreac», Германия).

2.3. Синтез анионообменников

Модифицирование ПС-ДВБ

Синтез ПС-ДВБ с вторичными аминогруппами проводили по схеме, описанной в работе [16], но в оптимизированных условиях для стадий ацилирования и восстановительного аминирования. ПЭИ прививали в тех же условиях, что и в работе [104], и получали продукт ВРЕИ.

Для получения эпоксицированной матрицы остаточные двойные связи на поверхности ПС-ДВБ окисляли м-ХПБК. Для этого суспензировали ПС-ДВБ в дихлорметане или дихлорэтане (на 1 г ПС-ДВБ 7-35 мл растворителя), добавляли м-ХПБК. Реакционную смесь перемешивали на шейкере с нагреванием или без — время синтеза, его температуру и используемые растворители варьировали. После завершения реакции продукт промывали этанолом и водой. Схема синтеза эпоксицированной матрицы представлена на рис. 24.

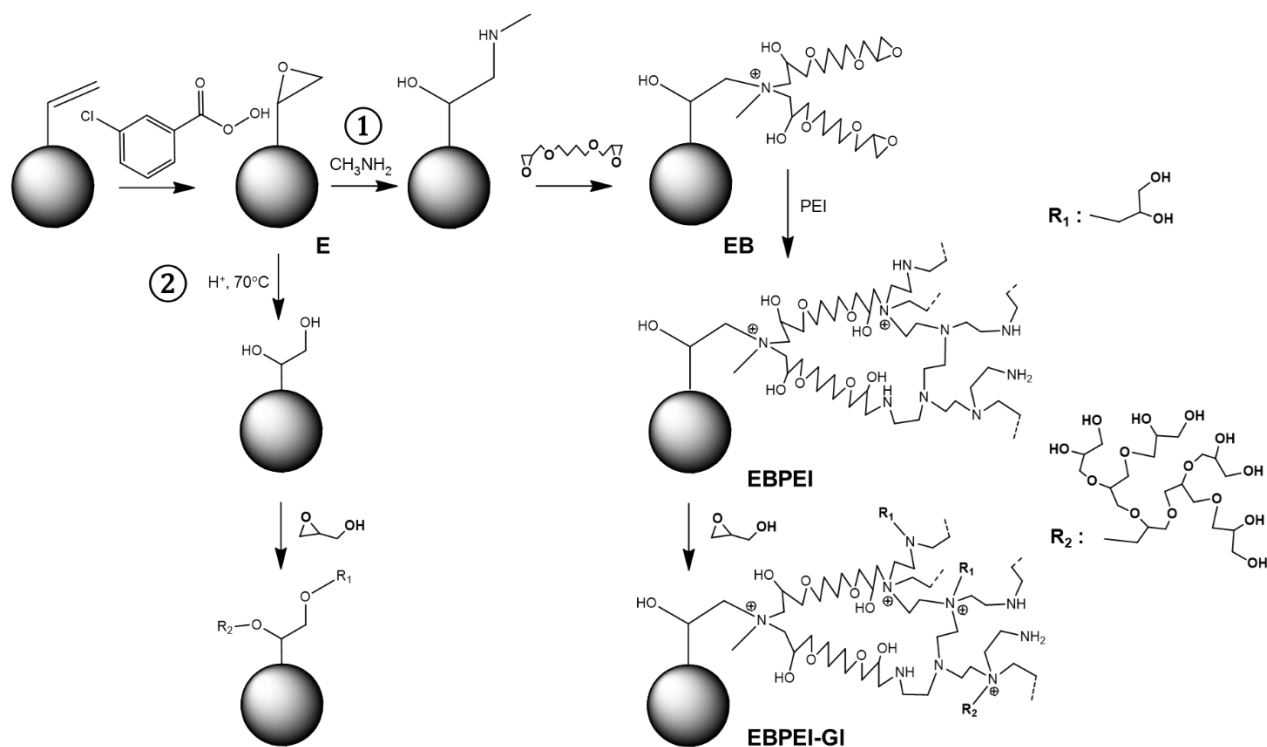


Рис. 24. Схема получения эпоксицированной матрицы, анионообменников EBPEI-GI на её основе и их предполагаемая структура. R₁, R₂ — возможные заместители, которые могут образовываться при кватернизации аминогрупп ПЭИ и полимеризации глицидола в структуре сорбента.

Хотя в работе выбраны реакции, характеризующиеся высокими выходами, минимальным числом побочных реакций, а при синтезе зачастую использовали избыток реагентов, невозможно гарантировать один вариант протекания реакций. Например, вторичная аминогруппа на поверхности матрицы может присоединять одну или две молекулы диэпоксида, в результате чего образуется третичная или четвертичная якорная аминогруппа и функциональный слой разной разветвленности. Далеко не все аминогруппы ПЭИ будут вступать в реакцию с диэпоксидом или глицидолом из-за стерических препятствий. В случае фаз с привитыми полиэлектролитами, вероятно, часть цепей может закрепляться двумя концами с образованием полиэлектролитных петель на поверхности частицы. Поскольку в настоящее время достоверных способов подтверждения структуры нанослоя на поверхности частиц ПС-ДВБ не существует, в работе приведены лишь предполагаемые структуры получаемых сорбентов.

Для оценки полноты протекания реакции эпоксидирования предварительно синтезировали сорбент Е-ТМА за счёт раскрытия эпокси-групп ТМА, а по его ёмкости судили о количестве полученных эпокси-групп. Подробнее про выбор условий эпоксидирования ПС-ДВБ и его дальнейшего модифицирования написано в разделе 3.3. Влияние температуры синтеза, растворителя и количества м-ХПБК на ёмкость полученных фаз отражено в табл. 2, а матрицы-продукты пронумерованы. Количества реагентов в работе приведены из расчета на 1 г исходной полимерной матрицы. Для синтеза фаз с привитым ПЭИ, кватернизованным глицидолом, использовали эпоксидированную матрицу №2. Для синтеза фаз с разветвленным функциональным слоем и сорбентов с привитым ПЭИ и полиэлектролитами использовали матрицу №7.

Дальнейшее аминирование матриц проводили за счёт реакции с МА в течение 24 часов. На первом этапе работы её проводили — для фаз ЕВРЕИ- G1 1 и ЕВРЕИ- G1 2 — при 60°C, на втором для увеличения выхода реакции — при 80°C. После проводили реакцию с 1,4-БДДГЭ при 60°C в течение 24 ч с получением фазы ЕВ. Обе стадии проводили в дистиллированной воде (20 мл на 1 г матрицы). В первом случае использовали 6 ммоль МА и 18 ммоль 1,4-БДДГЭ, а во втором использовали 3,6 ммоль каждого. ПЭИ прививали в тех же условиях, что и в работе [104], и получали продукт ЕВРЕИ.

Таблица 2. Условия реакции эпексидирования ПС-ДВБ и ёмкость фаз Е-ТМА на основе соответствующих матриц, полученных при их варьировании

Растворитель	Количество м-ХПБК, ммоль	Время эпексидирования, ч	Температура эпексидирования, °С	Время реакции с ТМА, ч	Ёмкость, мкмоль/г	№
CH ₂ Cl ₂	1,23	18	Комнатная	1	125	1
		16,5		2	72	2
		23		18	36,5	3
		19	37	24	20	4
					78	5
					97	6
					58	7
					73	8
C ₂ H ₄ Cl ₂	4	50	113		9	
			19		10	
			160		11	
			60	12		
			34	13		

Синтез фаз с привитыми полиэлектролитами в функциональном слое

Синтез полиэлектролитных слоев инициировали путем выдерживания смеси 1,4-БДДГЭ и амина (ДМА или МЭА) в ультразвуковой ванне. Инициализацию проводили в 10 мл дистиллированной воды и в течение 10 мин в случае реакции с 1,4-БДДГЭ и DMA, за исключением синтеза на основе матрицы, покрытой ПЭИ, для которой время составило 1 ч. В случае реакции с 1,4-БДДГЭ и МЭА время инициализации увеличили на 1 ч.

После инициализации переливали полученную смесь в колбу емкостью 100 мл, добавляли 10 мл дистиллированной воды и суспензию, состоящую из 1 г аминированного ПС-ДВБ, 5 мл дистиллированной воды и 5 мл этанола. Синтез сорбента-прототипа n(B-DMA) вели в течение 4 ч при 60°C (табл. 3). Для установления влияния количества реагентов синтезировали анионообменники с трехкратным (n(B-DMA) x3) и десятикратным (n(B-DMA) x10) количеством реагентов по сравнению с прототипом. Для выбора оптимальной температуры проводили синтезы при 60, 70 и 80°C. При изучении влияния продолжительности синтеза их проводили в течение 3, 10 и 24 ч. Условия синтеза остальных фаз с привитыми полиэлектролитами выбирали с использованием результатов, полученных при изучении условий синтез. Более подробные пояснения по их синтезу даны в

соответствующих разделах. Названия анионообменников и условия их синтеза даны в табл. 3.

Таблица 3. Обозначения, способ модифицирования ПС-ДВБ, условия синтеза и количества реагентов для анионообменников с привитыми полиэлектролитами

Фаза	Способ модифицирования ПС-ДВБ	Амин	Время синтеза, ч	Температура синтеза, °С	Количество реагентов, ммоль		
					1,4-БДЦЭ	Амин	Глицидол
n(B-DMA)	Ацилирование уксусным ангидридом и восстановительное аминирование МА	ДМА	4	60	1,48	1,37	—
n(B-DMA) 70°С			4	70	1,48	1,37	
n(B-DMA) 80°С			4	80	1,48	1,37	
n(B-DMA) 9 ч			9	60	1,48	1,37	
n(B-DMA) 24 ч			24	60	1,48	1,37	
n(B-DMA) x3			4	60	4,44	4,11	
n(B-DMA) x10			4	60	14,8	13,7	
n(B-DMA)-Gl			4	60	1,48	1,37	
ВРЕI-n(B-DMA)	Ацилирование и восстановительное аминирование с последующей прививкой ПЭИ		4	60	4,44	4,11	—
n(B-MEA) x3	Ацилирование уксусным ангидридом и восстановительное аминирование МА	МЭА	4	80	4,44	4,11	
ЕВРЕI-n(B-MEA)	Эпоксидирование, аминирование МА		4	60	4,44	4,11	
ЕВРЕI-n(B-MEA)-Gl	и прививка ПЭИ		4	60	4,44	4,11	

* дополнительная стадия обработки глицидолом — проводили при 70°С в течение 3 ч.

** дополнительная стадия обработки глицидолом — проводили при 80°С в течение 1 ч: сначала добавляли 100 мкл 45% раствора КОН, через 5 мин начинали прикапывать глицидол.

Синтез фаз с привитым ПЭИ, кватернизованным глицидолом

Фазы ВРЕI-Gl получали за счёт модифицирования продукта ВРЕI, полученного за счёт ацилирования и восстановительного аминирования ПС-ДВБ с последующей прививкой ПЭИ [16,104]. В качестве исходных условий кватернизации аминогрупп ПЭИ глицидолом для получения сорбента-прототипа ВРЕI-Gl x1 выбрали условия, предложенные в работе [104] — температуру 60°С, количество глицидола 0,02 моль на 1 г матрицы, продолжительность синтеза 3 ч. Для исследования влияния количества глицидола также синтезировали анионообменники с трехкратным (ВРЕI-Gl x3) и десятикратным (ВРЕI-Gl x10) количеством глицидола по сравнению с исходной методикой. Для выбора оптимальной температуры проводили синтезы при 60, 70 и 80°С.

При изучении влияния продолжительности синтеза синтеза проводили в течение 4, 9 и 24 ч. Названия анионообменников даны в соответствии с условиями синтеза в табл. 4.

Таблица 4. Обозначения, условия синтеза и количества реагентов для полученных фаз

Анионообменник	Количество глицидола, моль	Температура синтеза, °С	Продолжительность синтеза, ч
ВРЕI-GI x1	0,02	60	3
ВРЕI-GI x3*	0,06	60	3
ВРЕI-GI x10	0,20	60	3
ВРЕI-GI 60°С*	0,06	60	3
ВРЕI-GI 70°С**	0,06	70	3
ВРЕI-GI 80°С	0,06	80	3
ВРЕI-GI 3 ч**	0,06	70	3
ВРЕI-GI 10 ч	0,06	70	10
ВРЕI-GI 24 ч	0,06	70	24

*, **Фазы, использованные сразу в двух экспериментах, и представляющие собой одинаковые анионообменники.

На втором этапе работы с целью получения более гидрофильных сорбентов обработку глицидолом осуществляли при 80°С, при этом варьировали рН реакционной среды за счет добавления 100 мкл 45% раствора КОН, а также количество глицидола и продолжительность синтеза (табл. 5). Обработку глицидолом для получения фаз на основе ЕВРЕI проводили аналогично. Условия обработки глицидолом и предполагаемые доминирующие процессы, в которых он расходуется, приведены в табл. 5. Схема синтеза и предполагаемая структура полученных путем эпоксицирования сорбентов продемонстрирована на рис. 24.

Таблица 5. Обозначения сорбентов, условия обработки глицидолом и предполагаемые доминирующие процессы

Сорбент	Способ модифицирования ПС-ДВБ	Количество глицидола, моль	Время синтеза, ч	Добавление КОН	Предполагаемый доминирующий процесс
ВРЕI-GI 1	Ацилирование уксусным ангидридом и восстановительное аминирование МА	0,02	3	—	кватернизация
ВРЕI-GI 2		0,02	4	через 3 ч после добавления глицидола	кватернизация в первые 3 ч, затем полимеризация оставшегося глицидола
ВРЕI-GI 3		0,02	3	одновременно с глицидолом	полимеризация
ВРЕI-GI 4		0,02 моль в начале синтеза и 0,02 моль через 4 ч	10	через 3 ч после добавления первой порции глицидола	кватернизация в первые 3 ч, затем полимеризация оставшегося и второй порции глицидола
ЕВРЕI-GI 1	Эпоксицирование, аминирование МА и прививка ПЭИ	0,06	10	—	кватернизация
ЕВРЕI-GI 2		0,1 моль в начале синтеза и 0,1 моль через 4 ч	10	через 3 ч после добавления первой порции глицидола	кватернизация в первые 3 ч, затем полимеризация оставшегося и второй порции глицидола

2.4. Оценка воспроизводимости синтеза

Изучение воспроизводимости синтеза фаз с привитыми полиэлектролитами проводили для сорбента $n(\text{B-DMA})$. Для оценки воспроизводимости синтезировали 3 фазы ($n(\text{B-DMA})$ А, $n(\text{B-DMA})$ Б и $n(\text{B-DMA})$) и проводили сравнение их ионообменной ёмкости и удерживания неорганических анионов на данных сорбентах. Показано, что все три анионообменника обладают близким удерживанием 5 стандартных неорганических анионов (рис. 25), а также сопоставимой ионообменной ёмкостью: 235, 220 и 240 мкмоль/г. Относительные стандартные отклонения исправленных времен удерживания 5 стандартных анионов и оксогалогенидов приведены в табл. 6 и были ниже 4,6%. Таким образом, синтез анионообменников с помощью прививки полиэлектролитов, получаемых в растворе, характеризуется высокой воспроизводимостью.

При изучении воспроизводимости синтеза фаз с привитым ПЭИ, кватернизованным глицидолом, получали фазу с 10-кратным количеством глицидола по сравнению с исходной методикой ВРЕИ-G1 x10 на основе аминированной матрицы ВРЕИ трижды. Для оценки воспроизводимости проведено сравнение удерживания неорганических анионов на полученных сорбентах. Показано, что относительные стандартные отклонения исправленных времен удерживания 5 стандартных анионов и оксогалогенидов были ниже 5,5%. (табл. 7). Таким образом, синтез анионообменников на основе аминированной матрицы ВРЕИ с помощью кватернизации аминогрупп ПЭИ глицидолом характеризуется высокой воспроизводимостью.

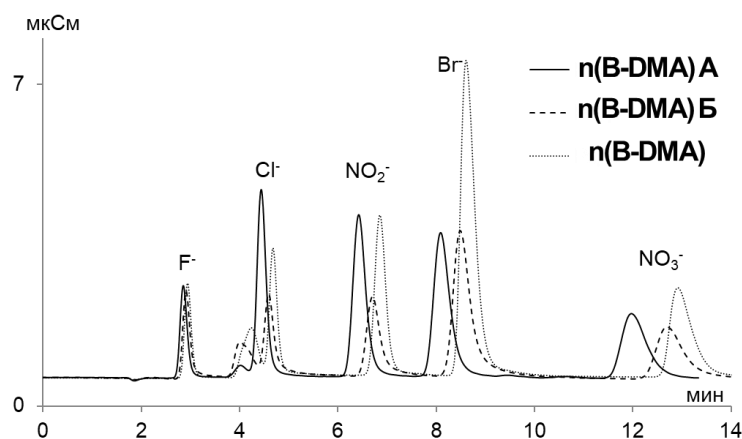


Рис. 25. Хроматограммы пяти стандартных неорганических анионов на сорбентах $n(\text{B-DMA})$ А, $n(\text{B-DMA})$ Б и $n(\text{B-DMA})$. Элюент: 15 мМ NaOH. Скорость потока: 1,0 мл/мин.

Таблица 6. Средние времена удерживания анионов, доверительные интервалы и относительные стандартные отклонения для анионообменника n(B-DMA). Элюент: 15 мМ NaOH

Анион	$t'_{cp} \pm \delta$, мин	s_r , % (n=3)
F ⁻	1,05 ± 0,05	3,9%
Cl ⁻	2,7 ± 0,2	4,3%
ClO ₂ ⁻	3,5 ± 0,2	3,2%
NO ₂ ⁻	4,8 ± 0,3	4,4%
BrO ₃ ⁻	5,2 ± 0,3	3,6%
Br ⁻	6,6 ± 0,4	4,0%
NO ₃ ⁻	10,7 ± 0,6	4,5%
ClO ₃ ⁻	19,03 ± 0,6	2,3%

Таблица 7. Средние времена удерживания анионов, доверительные интервалы и относительные стандартные отклонения для анионообменника ВРЕI-GI x10. Элюент: 8 мМ КОН

Анион	$t'_{cp} \pm \delta$, мин	s_r , % (n=3)
F ⁻	1,4 ± 0,1	3,2%
ClO ₂ ⁻	3,6 ± 0,2	4,0%
Cl ⁻	3,9 ± 0,2	4,7%
BrO ₃ ⁻	4,9 ± 0,2	3,8%
NO ₂ ⁻	6,1 ± 0,2	4,8%
Br ⁻	10,2 ± 0,2	5,4%
NO ₃ ⁻	13,4 ± 0,2	5,2%
ClO ₃ ⁻	17,03 ± 0,1	3,2%

2.5. Заполнение колонок

Для приготовления суспензии сорбентов использовали 20 мл воды на 1 г сорбента. В качестве подвижной фазы для упаковки сорбентов использовали 15 мМ раствор Na₂CO₃. Введение суспензии в хроматографическую колонку, упаковку и уплотнение частиц сорбента осуществляли при давлении 400 бар.

2.6. Определение ёмкости анионообменников

Ионообменную ёмкость синтезированных анионообменников определяли динамически, переводя их в сульфатную форму 20 мМ раствором K₂SO₄ или в хлоридную форму 20 мМ раствором KCl. Второй раствор использовали для функциональных слоёв с привитым ПЭИ из-за наличия в их структуре труднодоступных ионообменных центров. Для удаления избытка SO₄²⁻ или Cl⁻-ионов из системы, анионообменник промывали дистиллированной водой, а сульфат-ионы, закрепленные электростатически, вымывали из колонки 4 мМ раствором Na₂CO₃. Время, необходимое для полного перевода сорбента из одной формы в другую,

определяли по резкому изменению электропроводности. Элюат собирали в мерную колбу объемом 50 мл и определяли в нём концентрацию SO_4^{2-} - или Cl^- -ионов методом ИХ с использованием анионообменной колонки IonPac AS22 размером 250×4 мм (Thermo Fisher Scientific, США), затем рассчитывали удельную ионообменную ёмкость на грамм сухого сорбента. Результаты определения ёмкостей некоторых анионообменников приведены в соответствующих разделах обсуждения результатов, посвященных конкретному типу сорбентов.

2.7. Характеризация сорбентов методом термодесорбционной газовой хроматографии с МС-детектированием

Изучение высушенных образцов полученных сорбентов методом газовой хромато-масс-спектрометрии в условиях термодесорбции доказало закрепление фрагментов функционального слоя на поверхности матрицы. Исследования проводили на примере сорбента с привитыми полиэлектролитами — $n(\text{B-DMA})$, а также для фазы с привитым ПЭИ, кватернизованным глицидолом — VPEI-GI 1 . Предварительно данные фазы протестировали в режиме ИХ с подавлением и в режиме ГИХ, после чего колонки распаковали, сорбенты высушили при 60°C , а затем проанализировали методом термодесорбционной газовой хромато-масс-спектрометрии. На первом этапе термодесорбцию проводили при 250°C .

На масс-хроматограмме продуктов термического разложения сорбента $n(\text{B-DMA})$ наблюдали интенсивные пики, соответствующие фрагментам полимерной матрицы ПС-ДВБ и привитых полиэлектролитов — фрагменты 1,4-БДДГЭ и структуры, содержащие третичные или четвертичные аминогруппы (Приложение 5). Например, на масс-хроматограмме по сигналу с m/z 71 (Приложение 6а) пик на 12 мин может соответствовать фрагменту 1,4-БДДГЭ. К сожалению, в базе данных NIST присутствует только один кандидат 4-бутоксид-1-бутанол (SI 805). Пик на 15 мин на масс-хроматограммах по сигналам с m/z 71 и m/z 129, вероятно, соответствует самому 1,4-БДДГЭ (SI 957) (Приложение 6в).

Положительно заряженные ионы четвертичных аминов взаимодействуют в ионном источнике с электронами высокой энергии с последующей ионизацией и фрагментацией, поэтому фрагмент триметиламина (m/z 58) может наблюдаться в масс-спектрах как третичных, так и четвертичных аминов (см. масс-спектр бетаина из библиотеки NIST). В спектрах также наблюдался фрагмент ДМЭА (m/z 88).

Наблюдаемые индексы сходства оказались довольно низкими, а в результатах поиска по библиотеке NIST обнаружено небольшое число кандидатов из числа подходящих по структуре третичных аминов. Это может быть связано с наличием в наблюдаемых продуктах термодесорбции фрагментов с четвертичными аминогруппами.

На следующем этапе работы варьировали максимальную температуру нагрева термодесорбера в интервале от 60 до 250°C (Приложение 7). Термическая деструкция сорбента начинается при 180-200°C, но большая часть фрагментов отделяется при 250°C, что свидетельствует о достаточно высокой стабильности структуры функционального слоя фазы с привитым полиэлектролитом.

Аналогичный анализ провели и для сорбента с привитым ПЭИ, кватернизованным глицидолом — ВРЕI-GI 1. На масс-хроматограмме продуктов термического разложения сорбента наблюдали интенсивные пики, соответствующие фрагментам полимерной матрицы ПС-ДВБ и функционального слоя — фрагменты 1,4-БДДГЭ и, предположительно, полиглицидола (Приложение 8). Для фрагментов близких по структуре к диэпоксиду обнаружено 3 пика на 12, 15 и 16,4 мин (m/z 71 и m/z 129). Последний наиболее интенсивный и не наблюдался для сорбента с привитыми полиэлектролитами. Кроме того, с 7 по 13 мин обнаружены пики полярных компонентов, вероятно, полиглицидола, предварительно идентифицированные как глицерин на 9,7 мин (SI 834) и п-диоксан-2,5-диметанол (SI 780) на 12,4 мин. Термическая деструкция сорбента ВРЕI-GI 1 также начинается с 180-200°C (Приложение 9).

2.8. Условия разделения тестовых аналитов в режимах ГИХ и ОФ ВЭЖХ

Синтезированные фазы тестировали в режимах ГИХ и ОФ ВЭЖХ и изучали удерживание широкого круга аналитов. Для удобного сравнения фаз селективность и эффективность по каждому классу определяли в одинаковых условиях, которые даны в табл. 8. Для определения мертвого времени для всех классов использовали воду, как предложено в работе [43]. Температуру колонки была 30°C, если не указано иначе. Для получения итоговых хроматограмм модельных смесей условия элюирования могли изменить для более экспрессного и/или полного разделения. Например, разделение смесей слабо- и сильноудерживаемых водорастворимых витаминов осуществляли в режиме градиентного элюирования.

Таблица 8. Условия изучения удерживания тестовых аналитов

Класс веществ	Доля водной части в подвижной фазе, об. %	Состав водной части	Скорость потока, мл/мин	Детектирование
Углеводы	15	H ₂ O	1,0	УФ, 190 нм
Слабоудерживаемые витамины	7	100 мМ АФБ рН 3.0		УФ, 270 нм
Сильноудерживаемые витамины	30			
Аминокислоты	15	5 мМ ФБ* рН 6.5		УФ, 210 нм
Азотистые основания и нуклеозиды	10	20 мМ АФБ рН 3.0	0,5	УФ, 254 нм
Тест Танака		20 мМ ААБ рН 4.7		
Алкилбензолы		H ₂ O		

*ФБ – Фосфатный буферный раствор

ГЛАВА 3. Результаты и их обсуждение

В настоящее время актуальным направлением является разработка многофункциональных сорбентов, применимых как в режиме ИХ с подавлением, так и в ГИХ [43,66]. Поскольку гидрофобные сорбенты на основе ПС-ДВБ не позволяют удерживать сильнополярные соединения, необходимо повышение их степени гидрофилизации. Это позволит улучшить хроматографические характеристики слабогидратированных гидрофобных анионов, а также за счёт экранирования ароматической матрицы высокогидрофильными функциональными слоями такие сорбенты можно будет использовать в режиме ГИХ. Однако необходимо учитывать, что объемный слой может влиять на кинетику ионного обмена и качество упаковки колонки. Не смотря возможность использования сорбента с ковалентно закрепленным гиперразветвленным слоем в разных хроматографических режимах [43], нужно понимать, что гидратация подобных фаз снижается за счёт сшивок между соседними цепями с увеличением числа циклов модифицирования. В режиме ИХ с подавлением это приводит к более сильному удерживанию поляризуемых и слабогидратированных анионов [69,72,98]. В случае получения фаз привитыми полиэлектролитами с использованием вторичного амина вероятность протекания побочных реакций сшивки значительно ниже. Хотя, вероятно, соседние полиэлектролитные цепи все же могут сшиваться с образованием полиэлектролитных петель с аминированной подложкой. Таким образом, наиболее подходящими для получения гидрофильных фаз следует считать структуры с наименьшим количеством сшивок. С другой стороны, сшивки могут благоприятно сказаться на селективности по отношению к органическим кислотам в режиме ИХ с подавлением. Поэтому необходимо найти баланс между всеми упомянутыми факторами, чтобы получить высокоселективную неподвижную фазу для работы в режимах ГИХ и ИХ.

3.1. Сорбенты с привитыми полиэлектролитами¹

На данный момент в литературе [106,107] представлены лишь фазы с привитыми полиэлектролитами из 1,4-БДДГЭ и вторичного амина, позволяющие

¹ При подготовке данной и последующих глав диссертации использованы следующие публикации, выполненные автором лично или в соавторстве, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

1. Чикурова Н.Ю., Горбовская А.В., Ставрианиди А.Н., Фёдорова Е.С., Шемякина А.О., Буряк А.К., Ужель А.С., Чернобровкина А.В., Шпигун О.А. Новые сорбенты для определения аминокислот в почвенных экстрактах методом гидрофильной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием // Журн. аналит. химии. 2023. Т. 78. №7. С. 637-647. 30%.

работать в режиме ИХ с давлением. В качестве амина использовали моноамин — МЭА, а также диамин — БДМАЭЭ. Авторы [106] показали возможность управления селективностью полученных анионообменников за счёт выбора амина и ёмкостью за счёт изменения количества реагентов. Тем не менее, детальное изучение факторов, влияющих на гидрофильность, селективность и ёмкость таких фаз может быть полезно при создании неподвижных фаз для решения конкретных задач.

3.1.1. Исследование хроматографических свойств в режиме ИХ с давлением

3.1.1.1. Влияние условий синтеза

Для оценки влияния условий синтеза на селективность анионообменников в качестве вторичного амина для формирования полиэлектролитных слоев выбрали ДМА из-за его простотой структуры, обеспечивающей незначительные стерические затруднения. Сорбент $n(\text{B-DMA})$ служил прототипом для исследования влияния условий синтеза на селективность анионообменников. Его получали в условиях, предложенных в [106] — при температуре 60°C и в течение 4 ч, но с измененными для новой аминированной матрицы количествами реагентов (рис. 26). Для получения других фаз увеличивали температуру синтеза, его продолжительность или количество реагентов (табл. 3).

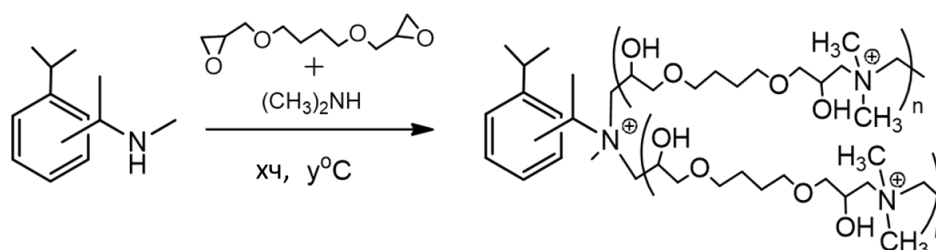


Рис. 26. Схема получения анионообменников $n(\text{B-DMA})$ на основе аминированного ПС-ДВБ и их предполагаемая структура.

Установлено, что повышение температуры на 10°C приводит к падению ёмкости в 2,5 раза (табл. 9), что можно объяснить увеличением скорости элиминирования по Гофману при реакции диэпоксида с амином [72]. В то же время уменьшение $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$ и $\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$ с повышением температуры может свидетельствовать о полимеризации 1,4-БДДГЭ. В результате формируются более короткие полиэлектролитные цепи, а 1,4-БДДГЭ может закрепляться как на поверхности матрицы, так и в функциональном слое. И хотя, образование такого более толстого ионообменного слоя привело к замедлению массопереноса и снижению абсолютной эффективности хлорида (табл. 10), он обеспечил более

высокую гидрофильность и лучшее экранирование ароматического матрицы. Об этом также свидетельствуют высокие относительные эффективности поляризуемых анионов для сорбентов n(B-DMA) 70°C и n(B-DMA) 80°C.

Таблица 9. Ёмкости, факторы удерживания хлорида и коэффициенты селективности по парам, отражающим степень гидрофилизации функционального слоя в режиме ИХ. Элюент: 15 мМ КОН для всех, кроме n(B-DMA) 80°C: 7 мМ КОН. Температура колонки: 30°C

Фаза	Ёмкость, мкмоль/г	k'(Cl ⁻)*	$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$	$\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{NO}_3^-)$
n(B-DMA)	240	1,5	3,93	1,94	1,64	6,92	1,76
n(B-DMA) 70°C	100	0,72	3,29	1,79	1,52	5,30	1,61
n(B-DMA) 80°C	40	0,34	2,77	1,59	1,44	4,17	1,50
n(B-DMA) 9ч	130	0,93	3,21	1,76	1,50	5,49	1,71
n(B-DMA) 24ч	100	0,73	3,36	1,81	1,54	5,18	1,54
n(B-DMA) x3	330	1,9	4,18	1,89	1,63	6,99	1,67
n(B-DMA) x10	420	2,4	4,30	1,81	1,63	7,15	1,66

* k' при 15 мМ КОН

Таблица 10. Абсолютная эффективность по хлориду и изменение эффективности анионообменников относительно хлорида (N(An⁻)/N(Cl⁻)) в зависимости от условий синтеза. Элюент: 15 мМ КОН для всех, кроме n(B-DMA) 80°C: 7 мМ КОН. Температура колонки: 30°C

Фаза	n(B-DMA)	n(B-DMA) 70°C	n(B-DMA) 80°C	n(B-DMA) 9ч	n(B-DMA) 24ч	n(B-DMA) x3	n(B-DMA) x10
N(Cl ⁻), тг/м	38000	26000	22000	15500	21500	32000	26500
Анион	N(An ⁻)/N(Cl ⁻)						
фторид	0,6	0,6	0,7	0,8	0,7	0,6	0,6
хлорит	1,0	1,0	1,1	0,9	0,9	0,9	0,9
нитрит	1,1	1,0	0,9	0,9	0,9	1,0	0,9
бромат	0,9	1,1	1,0	0,7	1,0	0,8	0,7
бромид	1,1	1,3	1,0	0,8	1,2	0,9	0,9
нитрат	1,1	1,2	1,0	0,7	1,1	0,8	0,8
хлорат	0,6	0,7	0,6	0,5	0,5	0,5	0,6

При увеличении продолжительности синтеза с 4 до 9 ч также наблюдали параллельное снижение ёмкости, предложенных параметров гидрофильности и относительной эффективности по поляризуемым анионам. Однако дальнейшее увеличение до 24 ч привело к менее выраженному падению ёмкости, незначительному увеличению $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$, $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$ и $\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$, в то же время $\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{Cl}^-)$ и $\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{NO}_3^-)$ продолжали снижаться. Это можно объяснить худшим экранированием ароматической основы и более сильными неионообменными

взаимодействиями анионов с ней. Стоит отметить, что падение ёмкости в целом пропорционально уменьшению фактора удерживания хлорида — $k'(Cl^-)$, полученному в одинаковых условиях (табл. 9). Это свидетельствует о возможности использования $k'(Cl^-)$ для первоначальной оценки ёмкости таких фаз. Однако при значительных изменениях гидрофильности сорбентов следует учитывать возможность различной элюирующей силы гидроксид-иона.

Таким образом, повышение температуры и продолжительности синтеза снижает ионообменную ёмкость фаз с привитыми полиэлектролитами, причем эффект более выражен при повышении температуры. Также повышение температуры и продолжительности синтеза привело к общему снижению абсолютных значений эффективности (табл. 10) и снижению селективности по некоторым ключевым парам неорганических анионов и органических кислот (рис. 27) (глюконат/фторид, лактат/ацетат, лактат/формиат, хлорид/формиат, малеат/сукцинат), поэтому дальнейшие синтезы проводили при 60°C в течение 4 часов. Тем не менее самые низкие предложенные параметры оценки гидрофильности отмечены для фазы $n(B-DMA)$ 80°C (табл. 9), поэтому нагревание реакционной смеси до 80°C можно использовать для повышения гидрофильности сорбентов с привитыми полиэлектролитами.

Для повышения ионообменной ёмкости были получены сорбенты с 3- и 10-кратными количествами амина и диэпоксида по сравнению с прототипом $n(B-DMA)$. Показано, что рост ёмкости замедляется с увеличением количества реагентов (табл. 9). Это наблюдение коррелирует с литературными данными для других ковалентно привитых анионообменников [100,101] и для полиэлектролитных фаз [90] и может быть следствием увеличения возможности гомополимеризации и сшивки слоя с увеличением количества реагентов. $\alpha(NO_3^-/Cl^-)$ и $\alpha(ClO_3^-/Cl^-)$ незначительно увеличиваются, а $\alpha(BrO_3^-/Cl^-)$ слабо уменьшается для фаз $n(B-DMA)$ x3 и $n(B-DMA)$ x10 по сравнению с прототипом, что свидетельствует об их близкой степени гидрофилизации и экранирования. Так, наименьшее значение $\alpha(BrO_3^-/Cl^-)$ в данной работе по-прежнему продемонстрировала фаза $n(B-DMA)$ 80°C. Тем не менее, гиперразветвленный слой обеспечивает лучшее экранирование, что можно видеть при сравнении селективности полученных фаз с гиперразветвленными, полученными на основе аналогично аминированного ПС-ДВБ [69], например, с 5-ти слойным

сорбентом (Приложение 3). Небольшое снижение относительной эффективности поляризуемых анионов также указывает на небольшую потерю гидрофильности с ростом ёмкости (табл. 10). В целом все три синтезированные фазы характеризовались достаточно высокими абсолютными эффективностями (26500-38000 тт/м по хлориду), однако увеличение ёмкости приводило к снижению эффективности, вероятно, из-за снижения скорости массопереноса.

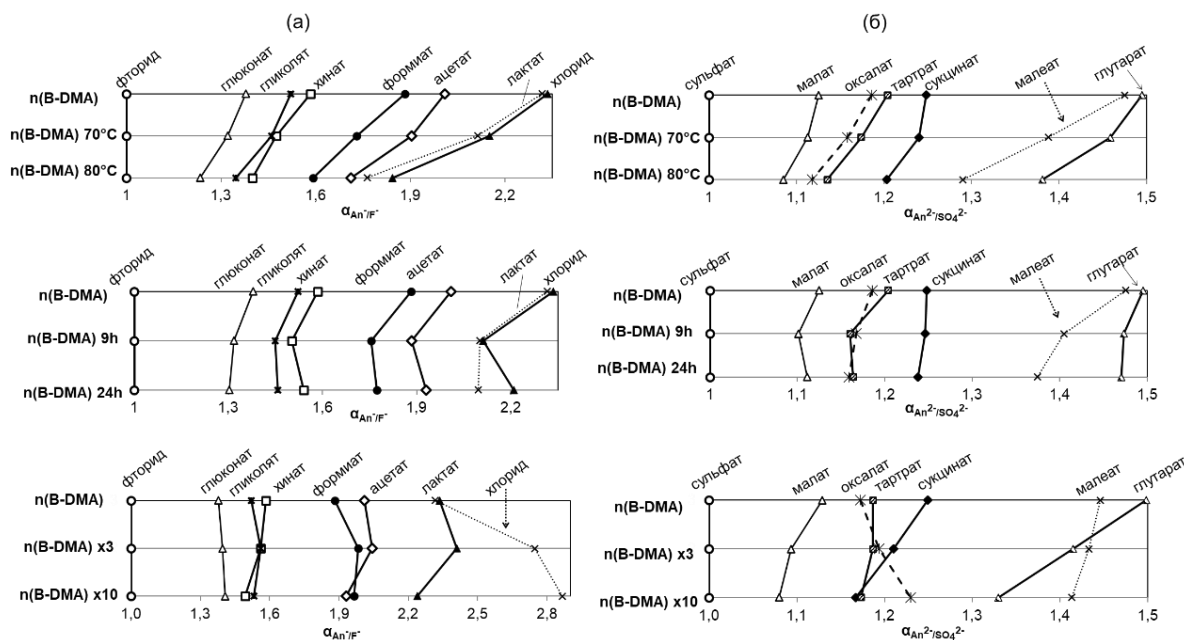


Рис. 27. Селективность по отношению к одноосновным (а) и двухосновным (б) анионам органических кислот в зависимости от условий синтеза. Элюент: (а) 3 мМ КОН и (б) 15 мМ КОН для всех, кроме n(B-DMA) 80°C: 1 мМ КОН и 7 мМ КОН, соответственно.

С увеличением количества реагентов наблюдали рост селективности по отношению к паре хлорид/лактат, а также изменение порядка элюирования хинат/гликолят, ацетат/формиат, сукцинат/оксалат и глутарат/малеат (рис. 27). Более высокая селективность по паре хлорид/лактат анионообменников n(B-DMA) x3 и (B-DMA) x10 обеспечила на этих сорбентах, упакованных в колонки длиной 10 см, разделение ацетата, лактата и хлорида до базовой линии (рис. 28), что было невозможно на фазе n(B-DMA). Полученные в данной работе сорбенты с привитыми полиэлектролитами позволяют разделить модельные смеси, включающие одно-, двух- и трехосновные органические кислоты и неорганические анионы в режиме градиентного элюирования. Фаза n(B-DMA) обеспечивает разделение 19 анионов, n(B-DMA) x3 — 20 анионов, а наибольшей разделяющей способностью характеризуется фаза n(B-DMA) x10, которая позволяет разделить смесь из 21 компонента. Подход к прививке полиэлектролитов позволил получить

анионообменники, сравнимые с гиперразветвленными по разделяющей способности и эффективности [43,67], в результате менее трудоемкого синтеза.

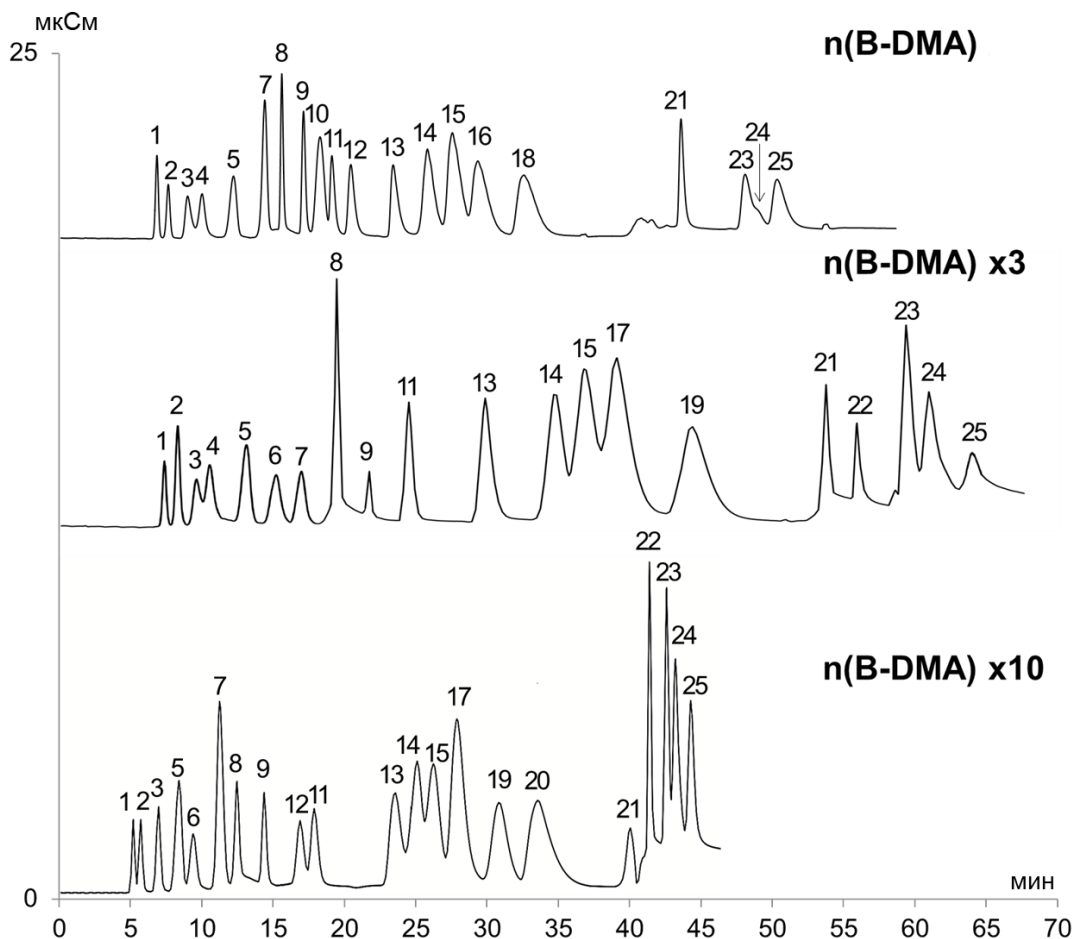


Рис. 28. Разделение модельных смесей анионов на сорбентах с привитыми полиэлектролитами, полученными с разным количеством реагентов. Элюент: n(B-DMA): 0–12 мин – 3 мМ NaOH, 12–13 мин – 3–12 мМ NaOH, 39–40 мин – 12–35 мМ NaOH; n(B-DMA) x3: 0–16 мин – 3 мМ NaOH, 16–17 мин – 3–12 мМ NaOH, 50–52 мин – 12–40 мМ NaOH; n(B-DMA) x10: 0–9 мин – 7 мМ NaOH, 9–10 мин – 7–17 мМ NaOH, 35–37 мин – 17–60 мМ NaOH. Скорость потока: 1,0 мл/мин. 1 – фторид, 2 – иодат, 3 – глюконат, 4 – хинат, 5 – ацетат, 6 – лактат, 7 – хлорид, 8 – хлорит, 9 – нитрит, 10 – пропионат, 11 – бромид, 12 – пируват, 13 – нитрат, 14 – сульфат, 15 – малат, 16 – сукцинат, 17 – оксалат, 18 – глутарат, 19 – малеат, 20 – хлорат, 21 – фумарат, 22 – фосфат, 23 – цитрат, 24 – изоцитрат, 25 – транс-аконитат.

Исследование полученных фаз с привитыми полиэлектролитами показало, что их ёмкость можно увеличить за счёт увеличения количества реагентов, а повысить гидрофильность возможно путем проведения синтеза при 80°C. Высокая ёмкость таких фаз делает их перспективными для анализа проб с высоким содержанием аналитов. В целом, увеличение количества реагентов и, следовательно, увеличение ёмкости анионообменников приводит лишь к незначительным изменениям в их селективности. Стоит отметить, что гидрофильность полученных фаз довольно

низкая, и они не подходят для разделения сильнополяризуемых анионов, поэтому далее предложены дополнительные способы её повышения.

3.1.1.2. Способы повышения степени гидрофилизации и экранирования

Как продемонстрировано в разделе 1.3.2., закрепление ПЭИ на поверхности гидрофобной матрицы успешно используют для её экранирования и получения гидрофильных анионообменников [66,104,105]. Кроме того, дальнейшее закрепление на аминогруппы ПЭИ полиэлектролитных цепей позволит получить сорбенты с большей плотностью прививки цепей по сравнению с описанными в разделе 3.1.1.1. Для установления влияния полиамина в структуре сорбента получали анионообменник ВРЕИ-*n*(В-DМА).

Также повысить гидрофильность анионообменников можно за счёт использования более гидрофильных аминов для формирования ионообменных центров [75,76]. Коэффициент распределения в системе октанол-вода ($\log P$) использованного на первом этапе работы ДМА согласно программе EPIWEB 4.1. составил -0,17. Использование более гидрофильного ДЭА ($\log P = -1,71$) в структуре полиэлектролитного слоя привело к созданию сорбента с низкой ёмкостью. В итоге в качестве гидрофильного и менее стерически затруднённого амина выбрали МЭА ($\log P = -1,15$), ранее применённый для синтеза фаз с привитыми полиэлектролитами на основе аминированного ЭВБ-ДВБ [106,107]. Однако, так как в структуре МЭА находится акцепторный гидроксильный заместитель, для повышения ёмкости фазу с МЭА (*n*(В-МЕА) $\times 3$) синтезировали в условиях, выбранных по результатам раздела 3.1.1.1. — с увеличенными в 3 раза количествами реагентов для повышения ёмкости и при 80°C для повышения гидрофильности, а также с увеличенным временем инициализации роста полиэлектролитов.

Также повышения гидрофильности и степени экранирования матрицы возможно за счёт модифицирования ионообменных центров (рис. 23). Для этого сорбент *n*(В-DМА) обрабатывали глициолом по аналогии с работой [73] и получали фазу *n*(В-DМА)-Gl.

Первичную оценку перспективности выбранных подходов к гидрофилизации проводили с помощью сравнения предложенных ранее параметров для полученных фаз и прототипа *n*(В-DМА) (табл. 11). Как можно видеть из представленных данных, самыми малыми значениями данных параметров обладала фаза ВРЕИ-*n*(В-DМА), что

говорит о перспективности сочетания подхода к одновременной прививке ПЭИ и полиэлектролитных цепей для получения фаз с высокой гидрофильностью. Недостатком данного подхода является снижение абсолютной эффективности хлорида, а также относительной эффективности поляризуемых анионов. Это может быть связано с неравномерным покрытием частиц ПЭИ, в результате чего экранирование может быть неполным. Кроме того, массоперенос через объёмный полимерный слой также может быть замедлен, что тоже может приводить к снижению эффективности.

Таблица 11. Факторы удерживания хлорида, коэффициенты селективности по выбранным парам, а также абсолютная эффективность по хлориду и относительные эффективности поляризуемых анионов ($N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$). Элюент: 15 мМ КОН

Фаза	n(B-DMA)	BPEI-n(B-DMA)	n(B-MEA) x3	n(B-DMA)-GI
$k'(\text{Cl}^-)*$	1,5	1,1	1,2	1,8
$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$	3,93	3,43	3,76	4,96
$\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$	1,94	1,36	1,75	2,10
$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$	1,64	1,42	1,53	1,72
$\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{Cl}^-)$	6,92	4,93	6,09	8,72
$\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{NO}_3^-)$	1,76	1,44	1,62	1,76
$N(\text{Cl}^-)_{\text{тг/м}}$	38000	28000	28500	32500
$N(\text{Br}^-)/N(\text{Cl}^-)$	1,1	0,9	0,8	1,1
$N(\text{NO}_3^-)/N(\text{Cl}^-)$	1,1	0,8	0,8	0,8
$N(\text{ClO}_3^-)/N(\text{Cl}^-)$	0,6	0,4	0,6	0,5

* k' при 15 мМ КОН

К снижению выбранных параметров привела и замена ДМА на более гидрофильный амин, однако фаза n(B-MEA) x3 заметно уступала BPEI-n(B-DMA) в степени экранирования. Замена метильного заместителя на гидроксиэтильный также привела снижению абсолютной эффективности, при этом можно отметить небольшое снижение и относительной эффективности поляризуемых анионов. Это связано с меньшей степенью экранирования ароматической матрицы функциональным слоем сорбента n(B-MEA) x3. Повышение времени инициализации при синтезе этой фазы, вероятно, привело к образованию полиэлектролитов большей длины. Как следствие, фаза n(B-MEA) x3 имела меньшую плотность прививки слоя. Это подтверждает необходимость повышения плотности прививки полиэлектролитов для обеспечения высокой степени экранирования матрицы.

Фаза n(B-DMA)-GI, полученная с помощью обработки прототипа глициолом, оказалась наиболее гидрофобной и характеризовалась наибольшим $k'(\text{Cl}^-)$. На

поверхности и в порах частиц использованной для синтеза $n(\text{B-DMA})$ химически модифицированной матрицы могут оставаться некваaternизованные аминогруппы. По всей видимости глицидол преимущественно вступал в реакцию с данными поверхностными аминогруппы, а не с β -гидроксильными группами в ионообменных центрах. Это привело к росту гидрофобности, так как появлялись новые функциональные группы в слабо гидратированных зонах — у поверхности матрицы или даже в её порах. Как следствие, фаза $n(\text{B-DMA})\text{-GI}$ характеризовалась также наименьшей степенью экранирования, о чём свидетельствует наибольшее значение $\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$ и низкая относительная эффективность поляризуемых нитрат- и хлорат-ионов. Таким образом, данный подход к модифицированию анионообменников с привитыми полиэлектролитами оказался неперспективным при использовании фаз на основе химически модифицированной гидрофобной матрицы с большим количеством реакционноспособных групп на поверхности.

На полученных гидрофильных сорбентах также изучали удерживание анионов органических кислот (рис. 29). Для анионов одноосновных и двухосновных органических кислот при повышении гидрофильности функционального слоя можно отметить снижение относительного удерживания (рис. 29а и 29б, соответственно). Исключение составил оксалат, на удерживание которого гидрофильность не оказала влияния (рис. 29б). Наиболее значительное снижение отмечено для анионов самых гидрофобных кислот — малеата и глутарата, которые на фазе VPEI-n(B-DMA) элюировались совместно с оксалатом, в то время как две другие обеспечивали их разделение с ним. В целом, гидрофилизация ионообменного слоя предсказуемо отразилась негативно на селективности по отношению к органическим кислотам.

При создании полиэлектролитных функциональных слоев используют 1,4-БДДГЭ, который может не только участвовать в реакции образования полиэлектролитов, но и сшивать ПЭИ. Это может привести к уменьшению степени гидратации функционального слоя и его гидрофильности [104]. Для оценки возможности прохождения такой побочной реакции получали сорбент VPEI-V в аналогичных условиях, что и VPEI-n(B-DMA) , но без диметиламина. Известно, что сшивки слоя приводят к дополнительным стерическим препятствиям и ограничивают доступность ионообменных центров для многозарядных анионов, таких как сульфат и фосфат, удерживание которых зависит лишь от электростатических взаимодействий.

В связи с этим факторы удерживания по многозарядным анионам при равных факторах удерживания по хлориду ($k'(SO_4^{2-})$ и $k'(PO_4^{3-})$) использовали для оценки степени сшивок в функциональных слоях анионообменников ВРЕI-n(B-DMA) и ВРЕI-B (табл. 12). $k'(PO_4^{3-})$ для сорбента ВРЕI-n(B-DMA) почти в три раза превышал таковой для фазы с сшитым функциональным слоем с труднодоступными ионообменными центрами. Это свидетельствует о том, что даже если побочная реакция сшивки 1,4-БДДГЭ проходит при формировании полиэлектролитных цепей во время синтеза ВРЕI-n(B-DMA), то её влияние на свойства сорбента незначительно.

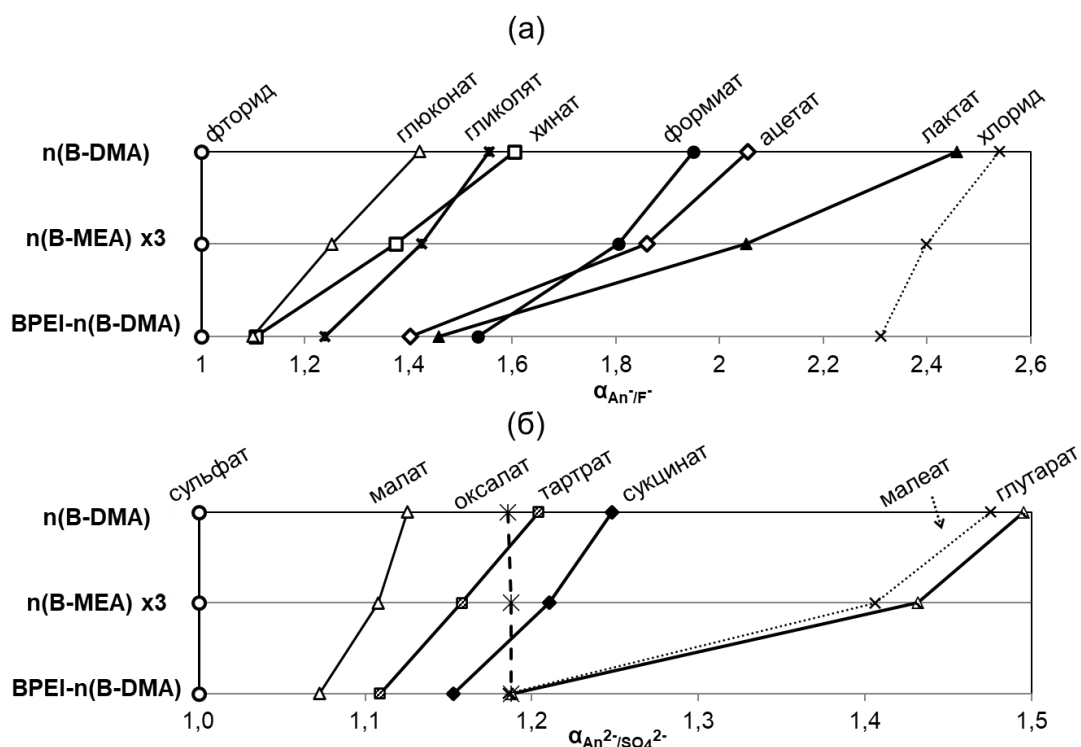


Рис. 29. Сравнение селективности по отношению к одноосновным (а) и двухосновным (б) анионам органических кислот фазы n(B-DMA) с полученными сорбентами с повышенной гидрофильностью. Элюент: (а) 3 мМ КОН и (б) 15 мМ КОН для всех, кроме n(B-MEA) x3: 10 мМ КОН.

Таблица 12. Факторы удерживания по многозарядным анионам $k'(SO_4^{2-})$ и $k'(PO_4^{3-})$ при $k'(Cl^-) = 2$ для анионообменников ВРЕI-n(B-DMA) и ВРЕI-B

Сорбент	ВРЕI-n(B-DMA)	ВРЕI-B
$k'(SO_4^{2-})$	8,7	4,4
$k'(PO_4^{3-})$	32,9	11,6

С точки зрения селективности сорбенты ВРЕI-n(B-DMA) и ВРЕI-B также сильно различались, поскольку второй анионообменник обладает меньшей степенью гидратации ионообменного слоя, в связи с чем является более гидрофобным ($\alpha(ClO_3^-/Cl^-) = 7,26$) и селективным (рис. 30). В то же время обе фазы имеют близкие

$\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$ — 1,39 для ВРЕI-B, что говорит о наибольшем вкладе ПЭИ в экранирование матрицы. По всем парам одноосновных кислот наблюдался рост селективности при переходе к более гидрофобному ВРЕI-B, за исключением пары глюконат/фторид, для которой наблюдалось изменение порядка элюирования (рис. 30а). Селективность анионообменников ВРЕI-n(B-DMA) и ВРЕI-B по отношению к двухосновным кислотам достаточно близкая, однако на втором значительно возросло их удерживание относительно сульфата (рис. 30б).

Так как наибольшее влияние гидрофобные взаимодействия с матрицей оказывают на удерживание сильнополяризуемых анионов, при оценке гидрофильности сорбентов также имеет смысл использовать параметры удерживания иодида, роданида и перхлората для оценки перспективности подходов к повышению степени гидрофиллизации анионообменников. Удерживание иодида, роданида и перхлората изучали с использованием 30 мМ КОН в качестве элюента на полученных гидрофильных фазах и сорбенте-прототипе. В целом, сильнополяризуемые анионы значительно удерживались на синтезированных фазах с привитых полиэлектролитами, их пики характеризовались низкой симметрией, а максимальная эффективность достигала 11000 тт/м для иодида и 11500 тт/м для перхлората для фазы n(B-MEA)x3 (табл. 13, рис. 31).

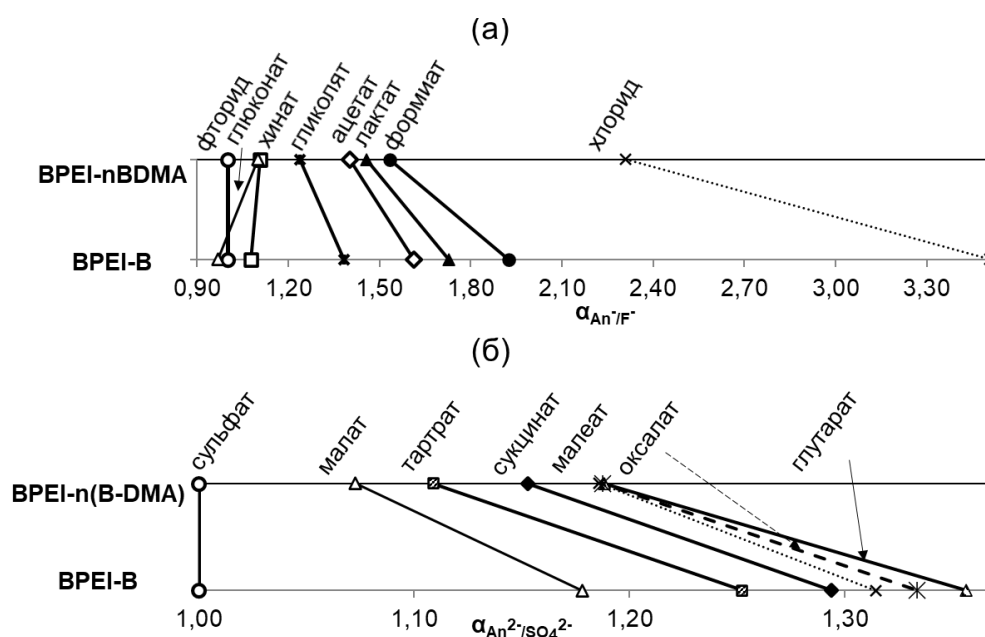


Рис. 30. Коэффициенты селективности для анионообменников ВРЕI-n(B-DMA) и ВРЕI-B: а: $\alpha(\text{An}^-/\text{F}^-)$. Элюент: 3 мМ КОН. б: $\alpha(\text{An}^{2-}/\text{SO}_4^{2-})$. Элюент: 15 мМ КОН.

В работах, посвященных новым анионообменникам, преимущественно устанавливают механизм удерживания для стандартных неорганических анионов.

Однако, более показательным является подтверждение ионообменного механизма для таких проблемных аналитов, как сильнополяризуемые анионы, поэтому перспективность использования предложенного подхода для повышения степени гидрофилизации сорбентов оценивали путем установления механизма удерживания сильнополяризуемых анионов на сорбенте $n(\text{B-MEA}) \times 3$. Для определения преобладающего механизма удерживания анионов строили зависимости логарифма фактора удерживания определяемых анионов от логарифма концентрации элюента. В табл. 14 представлены уравнения, описывающие данные зависимости, а также их коэффициенты корреляции.

Таблица 13. Факторы удерживания, эффективность колонок (N , тг/м) и асимметрия пиков (As) для сильнополяризуемых анионов для анионообменников $n(\text{B-DMA})$, BPEI-n(B-DMA) , и $n(\text{B-MEA}) \times 3$. Элюент: 30 мМ КОН

Сорбент	$n(\text{B-DMA})$			BPEI-n(B-DMA)			$n(\text{B-MEA}) \times 3$		
	k'	N	As	k'	N	As	k'	N	As
Γ^-	7,3	11000	2,4	8,6	6500	1,4	5,4	11000	1,3
SCN^-	27,8	8000	3,1	28,5	5500	1,4	19,1	7000	1,5
ClO_4^-	34,6	6000	3,6	40,5	3500	1,5	23,2	11500	1,6

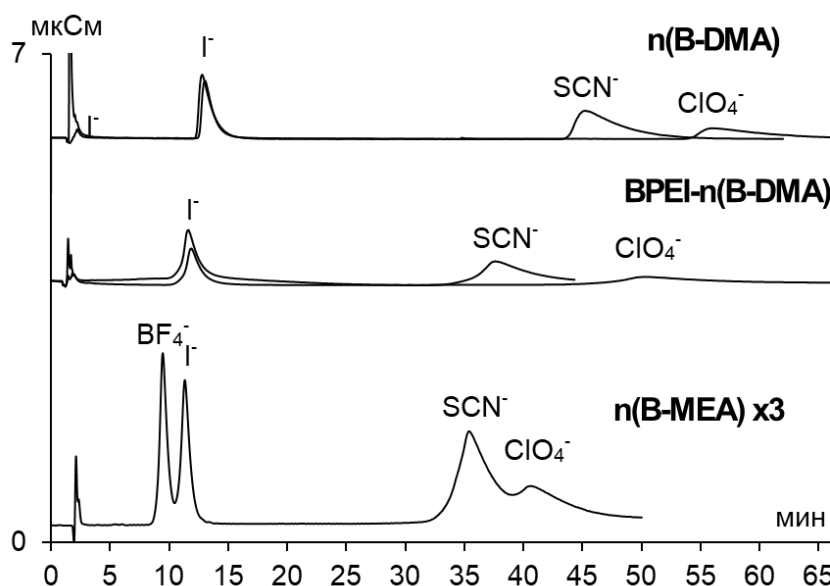


Рис. 31. Хроматограммы сильнополяризуемых анионов на сорбентах $n(\text{B-DMA})$, BPEI-n(B-DMA) и $n(\text{B-MEA}) \times 3$. Элюент: 30 мМ КОН. Скорость потока: 1 мл/мин. Температура: 25°C.

Таблица 14. Уравнения линейной аппроксимации и коэффициенты корреляции для зависимостей « $\lg k' - \lg C$ » для сорбента $n(\text{B-MEA}) \times 3$ (y — $\lg k'$, x — $\lg C$)

Анион	Уравнение	R^2
Γ^-	$y = -0,97x + 2,17$	0,9996
SCN^-	$y = -0,96x + 2,70$	0,9996
ClO_4^-	$y = -1,02x + 2,87$	0,9992

Все зависимости носят линейный характер и, как видно из представленных в табл. 14 уравнений, значение тангенса угла наклона прямой для всех анионов, соответствует отношению их заряда к заряду элюирующего гидроксид-иона и составляет $-1,0 \pm 0,1$. Это свидетельствует о том, что вклад неионообменных взаимодействий анионов с матрицей сорбента невелик и преобладающим механизмом удерживания исследуемых неорганических анионов является ионообменный механизм. Повышение концентрации с 30 до 45 мМ позволило снизить удерживание сильнополяризуемых анионов, а также повысить эффективность по иодиду и роданиду (табл. 15), поэтому дальнейшие эксперименты проводили при использовании 45 мМ КОН в качестве элюента.

Таблица 15. Факторы удерживания, эффективность колонок (N , тт/м) и асимметрия пиков (As) для поляризуемых анионов для анионообменника $n(B-MEA) \times 3$ при разных концентрациях элюента (КОН)

C_{KOH} , мМ	15			30			45			60		
Анион	k'	N	As	k'	N	As	k'	N	As	k'	N	As
I^-	10,7	15000	1,2	5,4	11000	1,3	3,7	14000	1,2	2,8	14500	1,2
SCN^-	37,9	19000	1,3	19,1	7000	1,5	13,4	8500	1,4	10,0	9000	1,4
ClO_4^-	46,1	6000	1,4	23,2	11500	1,6	14,7	9000	1,4	11,3	8500	1,5

Известно, что повышение температуры колонки позволяет увеличить ее эффективность. Для колонки $n(B-MEA) \times 3$ были получены зависимости Вант-Гоффа в интервале температур от 20 до 40°C с шагом 5°C для сильнополяризуемых анионов. Продемонстрирован экзотермический характер удерживания аналитов, то есть с повышением температуры времена удерживания сильнополяризуемых анионов снижались (табл. 16). При повышении температуры от 25°C до 40°C отмечали рост эффективности сильнополяризуемых анионов на 35%. Для иодида была достигнута эффективность 19500 тт/м, а для роданида и перхлората 12500 и 10500 тт/м, соответственно. Кроме того, при 40°C также улучшилась форма пиков данных анионов, в результате для иодида и роданида асимметрия составила 1,0 и 1,1, а для перхлората — 1,3. Установленные зависимости удерживания сильнополяризуемых анионов на сорбенте $n(B-MEA) \times 3$ позволили выбрать оптимальные условия для разделения смеси 7 стандартных анионов и сильнополяризуемых анионов (рис. 32). В результате смесь 10 анионов удалось разделить за 30 мин в градиентном режиме при температуре 40°C.

Таким образом, ковалентное закрепление гидрофильных полиэлектролитов, сформированных из МЭА и 1,4-БДДГЭ, на поверхности матрицы способствует ее экранированию и позволяет снизить неионообменные взаимодействия аналитов с матрицей. Температура является дополнительным инструментом для снижения удерживания сильнополяризуемых анионов и повышения симметрии и эффективности их пиков.

Таблица 16. Коэффициенты зависимостей $\ln k'_{An} - 1/T$ для анионообменника n(B-МЕА) x3. Элюент: 45 mM KOH. Скорость потока: 1 мл/мин

Анион	t_{ga}	R^2
Γ	620 ± 80	0,9383
SCN^-	910 ± 70	0,9741
ClO_4^-	930 ± 40	0,9924

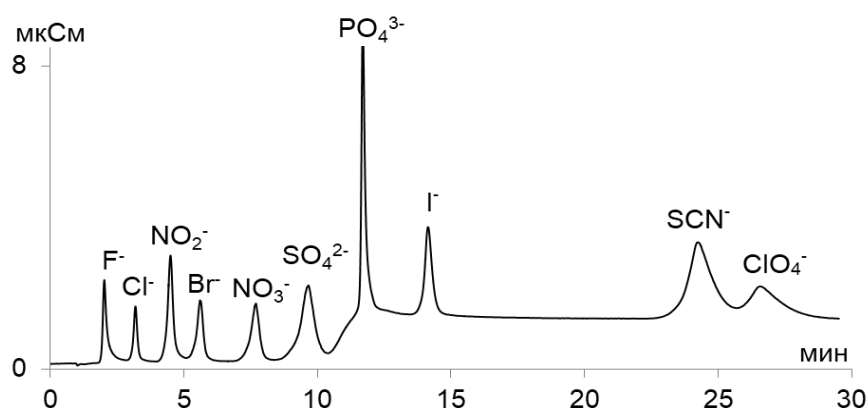


Рис. 32. Хроматограмма смеси 7 стандартных анионов и сильнополяризуемых анионов на сорбенте n(B-МЕА) x3. Градиент KOH: 0-9 мин: 8 mM KOH, 9-11 мин: 8-45 mM KOH. Скорость потока: 1 мл/мин. Температура колонки: 40°C.

3.1.2. Исследование хроматографических свойств в режиме ГИХ

Для исследования свойств неподвижных фаз с привитыми полиэлектролитами в режиме ГИХ выбрали: сорбент-прототип n(B-DMA), наиболее гидрофильные в режиме ИХ фазы ВРЕI-n(B-DMA) и n(B-МЕА) x3, а для выявления влияния ионообменной ёмкости на свойства в режиме ГИХ — сорбент n(B-DMA) x10. Вклад различных взаимодействий оценивали с помощью теста Танака для гидрофильных фаз. Селективность сорбентов изучали для модельных классов соединений, таких как сахара, аминокислоты, водорастворимые витамины, нуклеозиды и азотистые основания. В этой работе, как и в статьях [41,43], использовали воду в качестве маркера t_0 .

Гидрофильность в режиме ГИХ возрастала в ряду $n(\text{B-MEA}) \times 3 < n(\text{B-DMA}) < n(\text{B-DMA}) \times 10 \ll \text{BPEI-}n(\text{B-DMA})$ (табл. 17). $k(\text{U})$ для сорбентов $n(\text{B-DMA})$ и $n(\text{B-DMA}) \times 10$ свидетельствуют о росте гидрофильности с увеличением количеств реагентов при синтезе, что не коррелирует с результатами, полученными в режиме ИХ с подавлением. Предположительно, за счёт более высокой ионообменной ёмкости на поверхности неподвижной фазы может образовываться водный слой большей толщины, в котором уридин удерживается в режиме ГИХ. Рост гидрофильности в режиме ГИХ с увеличением ёмкости ранее отмечали для многофункциональных катионообменников на основе ПС-ДВБ: на него указывал рост удерживания гликолей в работе [40] и увеличение $k(\text{U})$ в работе [44]. Хотя анионообменник $n(\text{B-MEA}) \times 3$ в режиме ИХ продемонстрировал меньшее удерживание и лучшую форму пиков гидрофобных сильнополяризуемых анионов, однако в режиме ГИХ он характеризовался наименьшим $k(\text{U})$. По-видимому, плотности гидрофильных полиэлектролитов в структуре $n(\text{B-MEA}) \times 3$ недостаточно для создания однородного обогащенного водой приповерхностного слоя. В то же время сорбент $\text{BPEI-}n(\text{BDMA})$ значительно превосходил остальные фазы по $k(\text{U})$. Это говорит о перспективности подхода повышения плотности прививки полиэлектролитов для разработки гидрофильных фаз. Наибольшая гидрофильность данной фазы также может быть связана с протонированием аминогрупп ПЭИ в условиях теста Танака, что может дополнительно повышать число положительно заряженных групп в структуре фазы.

Таблица 17. Результаты теста Танака для сорбентов с привитыми полиэлектролитами. Условия см. гл. 2.7.

Сорбент	$n(\text{B-MEA}) \times 3$	$n(\text{B-DMA})$	$n(\text{B-DMA}) \times 10$	$\text{BPEI-}n(\text{B-DMA})$
$k(\text{U})$	0,80	1,00	1,44	3,10
$\alpha(\text{OH})$	1,68	1,84	2,04	2,22
$\alpha(\text{CH}_2)$	1,10	1,14	1,21	1,35
$\alpha(\text{V/A})$	1,40	1,30	1,40	1,63
$\alpha(\text{CX})$	0	0	0	0
$\alpha(\text{AX})$	89,8	173,7	128,6	109,5
$\alpha(\text{Tb/Tr})$	0,42	0,26	0,27	0,22

Гидроксильная селективность $\alpha(\text{OH})$ и метиленовая селективность $\alpha(\text{CH}_2)$ аналогично $k(\text{U})$ возрастали в ряду $n(\text{B-MEA}) \times 3 < n(\text{B-DMA}) < n(\text{B-DMA}) \times 10 < \text{BPEI-}n(\text{B-DMA})$, однако не так значительно. Повышение коррелировало с ростом плотности прививки полиэлектролитов на поверхности сорбентов. Наибольшая $\alpha(\text{OH})$

наблюдалась для фазы с привитым полиамином, что может быть связано с образованием большого количества водородных связей между содержащими гидроксильные группы анализитами и стерически доступными аминогруппами ПЭИ. Все фазы продемонстрировали близкие коэффициенты селективности по стереоизомерам пары видарабин/аденозин $\alpha(V/A)$, за исключением ВРЕИ-п(В-DМА), для которой $\alpha(V/A)$ несколько выше.

Предсказуемо катионообменная селективность $\alpha(CX)$ отсутствовала для всех сорбентов. С другой стороны, $\alpha(AX)$ возрастала в ряду $n(В-МЕА) \times 3 < ВРЕИ-п(В-DМА) < n(В-DМА) \times 10 < n(В-DМА)$ и совершенно не коррелировала с ионообменной ёмкостью в режиме ИХ и $k'(Cl^-)$. Такое возрастание может быть объяснено лучшим экранированием ароматического ядра функциональными слоями, содержащими гидрофильные полиэлектролиты с МЭА или привитым ПЭИ, а также лучшим экранированием для фазы, полученной с повышенным количеством реагентов. В результате гидрофобный анион п-толуолсульфонат удерживается меньше на фазах с лучшим экранированием.

Для установления влияния структуры функционального слоя на свойства сорбентов закономерно сравнивать фазы, полученные на основе одной и той же матрицы. В литературе описаны сорбенты, синтезированные на основе того же аминированного ПС-ДВБ, использованного в данной работе, с гиперразветвленным слоем [43] и разветвленным слоем с привитым эремомицином [41]. Можно отметить сравнимые $k(U)$ для фазы $n(В-DМА)$ и сорбента с привитым эремомицином. В то же время гиперразветвленный сорбент характеризуется большим $k(U)$ по сравнению с наиболее гидрофильной фазой ВРЕИ-п(В-DМА) (табл. 1). Это не коррелирует с селективностью в режиме ИХ и сниженной гидратацией гиперразветвленного слоя из-за сшивок в нём. Почти для всех сорбентов с привитыми полиэлектролитами $\alpha(AX)$ превышают таковые для фаз с привитым эремомицином и гиперразветвленным слоем. Это связано с меньшей степенью экранирования матрицы линейными цепями полиэлектролитов по сравнению с гиперразветвленным слоем или антибиотиком, что наблюдалось и в режиме ИХ для гиперразветвленного сорбента. $\alpha(OH)$ почти для всех полученных сорбентов значительно превышает значения, полученные для фазы с гиперразветвленным слоем.

На колонке $n(\text{B-DMA})$ исследовали взаимосвязь между объемной долей содержания воды в подвижной фазе и факторами удерживания рибофлавина (B_2), аденина и аспарагина (Asn) (рис. 33а). Показано, что диапазон ϕ_{min} , в котором происходит переключение с режима удерживания ГИХ на ОФ ВЭЖХ, различен для каждого аналита. Например, фактор удерживания высокополярного Asn начинал увеличиваться с 60% водной фазы в элюенте, что свидетельствует о широком диапазоне его удерживания за счет гидрофильных взаимодействий, в то время как в ОФ режиме он не удерживался. Режим ГИХ для менее гидрофильного B_2 реализовывался только при 30% водной фазы, а режим ОФ ВЭЖХ начинался при содержании более 70%. Наименее полярный аденин повторял тенденцию удерживания B_2 в режиме ГИХ, при этом смена на режим ОФ ВЭЖХ происходила при содержании воды в подвижной фазе более чем 80%.

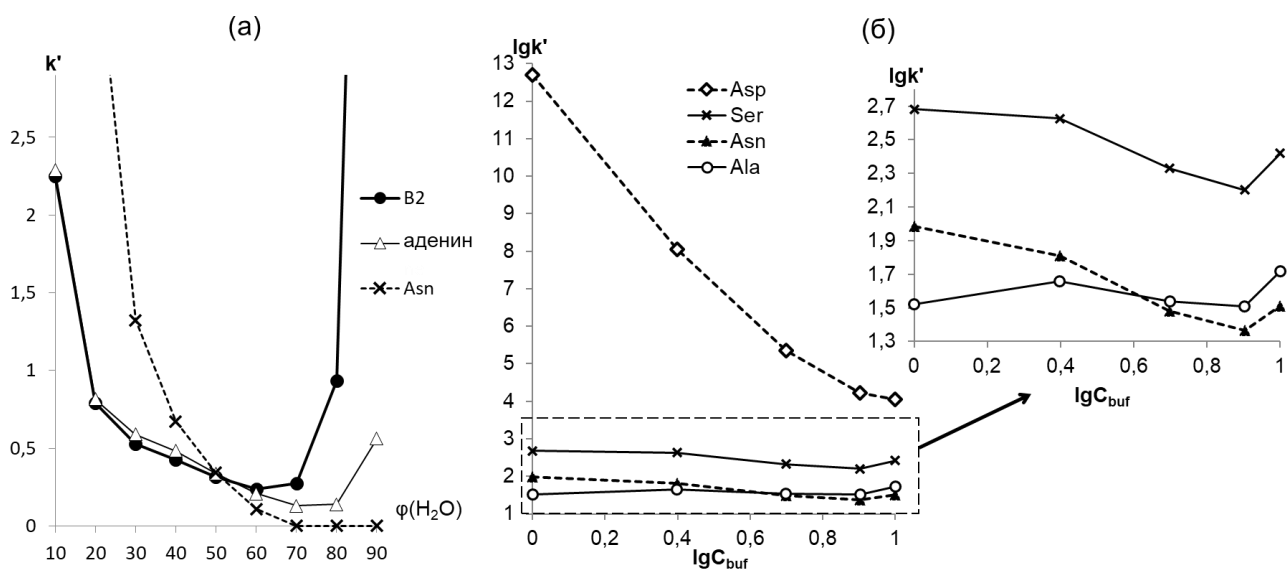


Рис. 33. Влияние состава подвижной фазы на удерживание полярных аналитов (а) и концентрации буферной системы на удерживание некоторых аминокислот (б) на фазе $n(\text{B-DMA})$. Элюент: (а) CH_3CN – вода; (б) 1-10 мМ ФБ, pH 6.5 – CH_3CN (25:75 об. %). Скорость потока: 1 мл/мин. УФ при 210 нм.

Кроме того, при варьировании концентрации буферного раствора показано, что ионная сила элюента практически не влияет на удерживание аминокислот (рис. 33б), что позволяет исключить ионный обмен как доминирующий механизм их удерживания. Исключение составила отрицательно заряженная в условиях анализа аспарагиновая кислота (Asp), на удерживание которой ионный обмен оказывает значительное влияние (табл. 18). Так при минимальной концентрации фосфатного буфера (ФБ) вклад ионного обмена в ее удерживание составил 82%, а при максимальной исследованной концентрации 10 мМ он был минимальным — 43%.

Таблица 18. Процентный вклад ионного обмена в k' при разных концентрациях противоиона для фазы $n(\text{В-DMA})$. Условия см. рис. 33б

C(ФБ), мМ	Ala	Asn	Ser	Asp
1	9%	37%	28%	82%
2,5	16%	31%	27%	71%
5	10%	16%	18%	57%
8	8%	9%	13%	45%
10	19%	18%	21%	43%

На выбранных фазах с привитыми полиэлектролитами изучали удерживание аминокислот. Для всех аминокислот наблюдали рост факторов удерживания в ряду сорбентов $n(\text{В-МЕА}) \times 3 < n(\text{В-DMA}) < n(\text{В-DMA}) \times 10 < \text{ВРЕI-n(В-DMA)}$, что согласуется с ростом $k(U)$ (рис. 34а). Наиболее гидрофильная колонка ВРЕI-n(В-DMA) продемонстрировала увеличение факторов удерживания слабоудерживаемых аминокислот в 2-3 раза по сравнению с наименее гидрофильной $n(\text{В-МЕА}) \times 3$, а для сильноудерживаемых — в 4-5 раз.

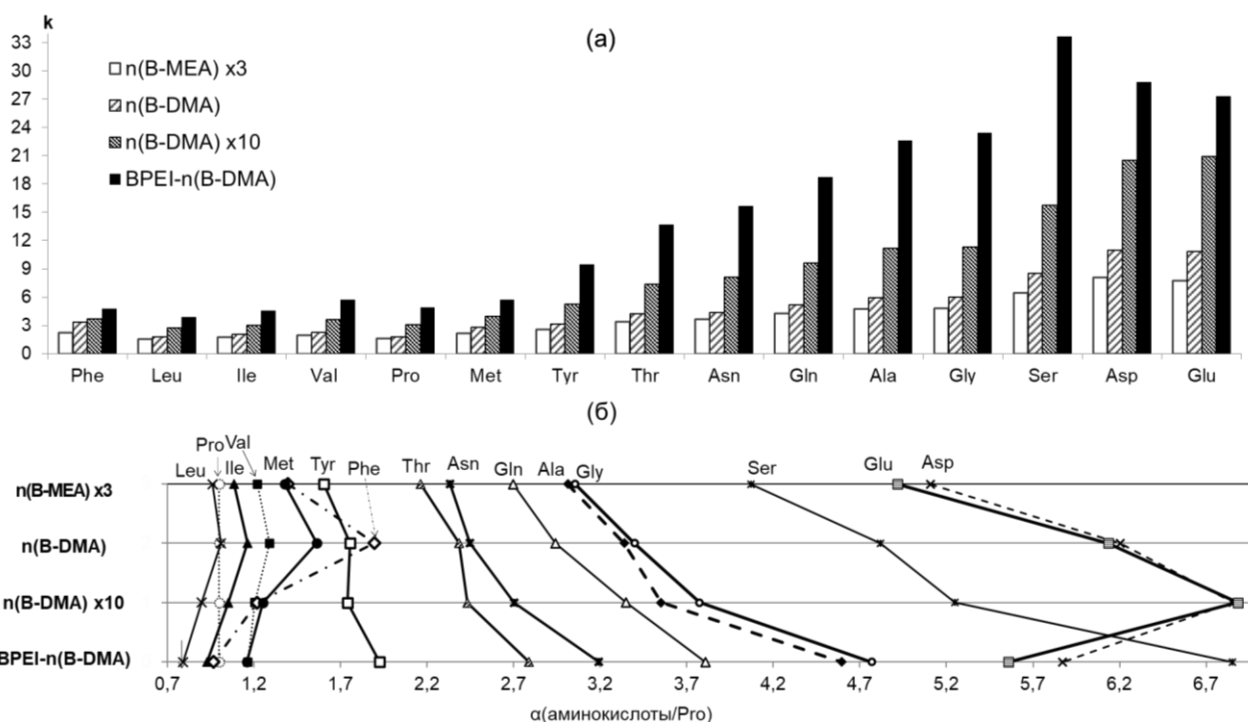


Рис. 34. Факторы удерживания аминокислот (а) и их коэффициенты селективности α (аминокислоты/Pro) (б) на полученных фазах с привитыми полиэлектролитами. Условия см. гл. 2.7.

Порядок элюирования большинства аминокислот соответствовал параметрам Ханша $\log P$ или наличию ОН-группы (например, для тирозина) (рис. 34б). Основным отличием по сравнению с неподвижными фазами на основе силикагеля [41,118] являлось удерживание фенилаланина, который на фазе с наименьшей ёмкостью $n(\text{В-}$

DMA) элюировался позже тирозина. Это связано с неполным экранированием поверхности ПС-ДВБ и гидрофобными взаимодействиями аналитов с ней. Таким образом, удерживание фенилаланина может быть индикатором доступности гидрофобной матрицы. Как видно из шкал селективности, повышение ёмкости сорбента, гидрофильности функционального слоя за счёт замены DMA на МЭА, а также экранирование матрицы с помощью ПЭИ привели к снижению его удерживания. В результате, на наиболее гидрофильной фазе ВРЕI-n(B-DMA) фенилаланин элюировался раньше пролина. Стоит отметить, что на гиперразветвленном анионообменнике, описанном в статье [43], фенилаланин и метионин элюировались совместно и после пролина [119]. Это говорит о лучшем экранировании поверхности матрицы слоем полиамина и закрепленных на его поверхности полиэлектролитов по сравнению с гиперразветвленным слоем, что также согласуется с данными ИХ.

Полученные сорбенты, в целом, сравнимы по эффективности (табл. 19), но с некоторыми исключениями. Например, фаза n(B-DMA) обладала наименьшей эффективностью по фенилаланину, хотя почти по всем остальным аминокислотам характеризовалась наибольшей эффективностью. Сорбент n(B-MEA) x3 обладал наиболее высокой эффективностью по фенилаланину и самой низкой — по аспарагиновой и глутаминовой кислотам. Что касается формы пиков, то наибольшая асимметрия отмечена для пиков гидрофобных метионина и фенилаланина на фазе n(B-DMA). Экранирование матрицы и использование более гидрофильного амина в структуре полиэлектролитов позволили повысить симметрию пиков гидрофобных аминокислот.

Хроматограммы разделения смесей аминокислот на синтезированных сорбентах представлены на рис. 35. Лучшей разделяющей способностью обладала фаза n(B-DMA) x10, обеспечившая разделение 8 аминокислот за 23 мин. В то же время сорбенты n(B-DMA) и ВРЕI-n(B-DMA) обеспечили разделение 7 аминокислот за меньшее время — 15 и 13 мин, соответственно. Причём гидрофильность фазы ВРЕI-n(B-DMA) позволила использовать более сильный элюент с 20% водной фазы вместо 15% для повышения экспрессности определения.

Таблица 19. Эффективность по аминокислотам и коэффициенты асимметрии их пиков для полученных фаз с привитыми полиэлектролитами. Условия см. гл. 2.7.

Сорбент	n(B-MEA) x3		n(B-DMA)		n(B-DMA) x10		BPEI-n(B-DMA)	
	N, тт/м	As	N, тт/м	As	N, тт/м	As	N, тт/м	As
Phe	9000	1,8	5000	3,3	6500	1,9	6500	1,1
Leu	14500	1,3	11500	1,9	10500	1,3	10000	0,9
Ile	13000	1,3	12000	1,6	11500	1,3	10000	0,9
Val	14500	1,2	13000	1,6	10000	1,3	11000	0,9
Pro	18500	1,0	18500	1,3	11000	1,2	12500	0,8
Met	12500	1,4	10000	2,1	8500	1,7	9500	0,9
Tyr	11500	1,3	10000	1,7	10500	1,3	9000	0,9
Thr	14000	1,4	13500	1,6	10500	1,6	13500	0,9
Gln	13500	1,0	15000	1,3	13500	1,1	13500	0,8
Asn	13500	1,0	15000	1,4	14000	1,1	12500	0,8
Gly	15500	1,0	16500	1,4	15000	1,1	19000	0,9
Ala	15500	1,0	16000	1,2	13000	1,1	15500	0,8
Ser	13000	1,2	12500	1,6	13000	1,1	15000	0,8
Asp	6500	0,7	18500	1,1	13500	1,0	15500	0,8
Glu	8000	0,7	18500	1,1	12000	1,0	16500	0,9

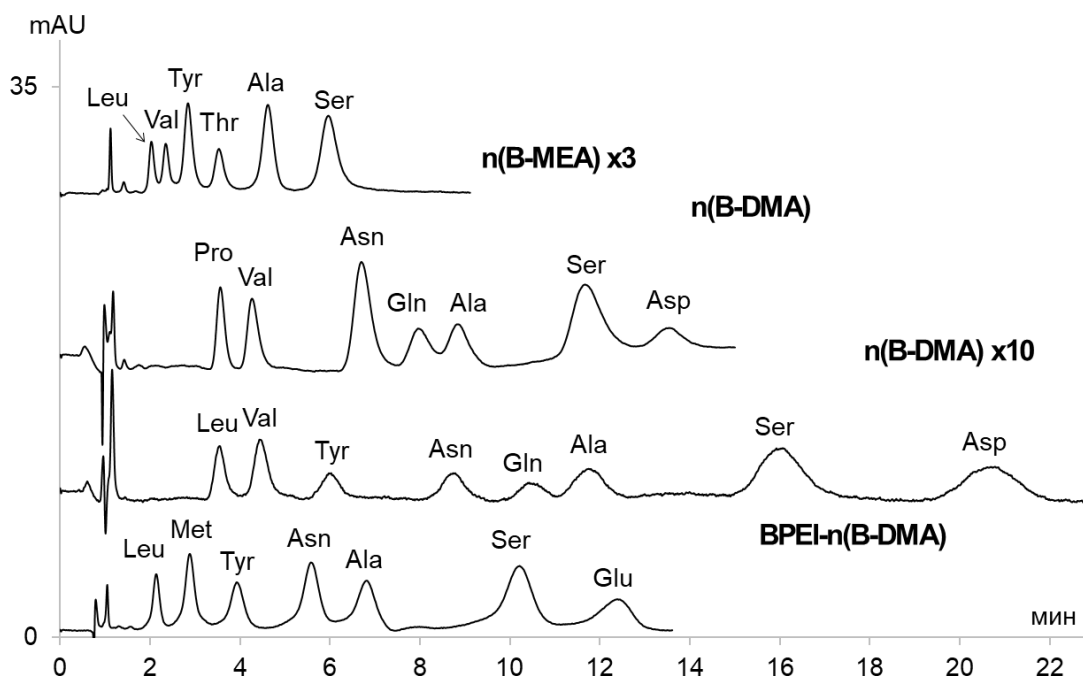


Рис. 35. Хроматограммы разделения смесей аминокислот на фазах с привитыми полиэлектролитами. Условия: Элюент: CH₃CN – 5 мМ ФБ, pH 6,5 (85:15, об. %) для всех, кроме BPEI-n(B-DMA): 80:20, об. %. Другие условия см. гл. 2.7.

Ещё одним модельным классом, изученным в режиме ГИХ, стали азотистые основания и нуклеозиды. Их факторы удерживания также возрастали одновременно с $k(U)$ сорбентов, за исключением фазы n(B-MEA) x3, на которой азотистые основания и нуклеозиды удерживались немного больше, чем на фазе n(B-DMA) с большей гидрофильностью (рис. 36а). В основном, на фазах с привитыми полиэлектролитами

нуклеозиды удерживались больше, чем соответствующие им более гидрофильные азотистые основания, что является характерным для гидрофильного режима (рис. 36б). Исключение составила пара аденин/аденозин на менее гидрофильных сорбентах. С ростом $k(U)$ и $\alpha(OH)$ можно отметить снижение относительного удерживания аденина, в результате на наиболее гидрофильных $n(B-DMA) \times 10$ и $ВРЕI-n(B-DMA)$ порядок элюирования для пары аденин/аденозин изменялся. Более высокое удерживание аденозина по сравнению с аденином характерно для сорбентов с большей гидрофильностью и свидетельствует о повышенной способности данных фаз к образованию водородных связей [120]. Повышение гидрофильности фаз также приводило к снижению относительного удерживания цитозина, в результате чего он элюировался совместно с уридином на фазе $n(B-DMA) \times 10$, однако, на сорбенте с ПЭИ его удерживание вновь значительно возрастало.

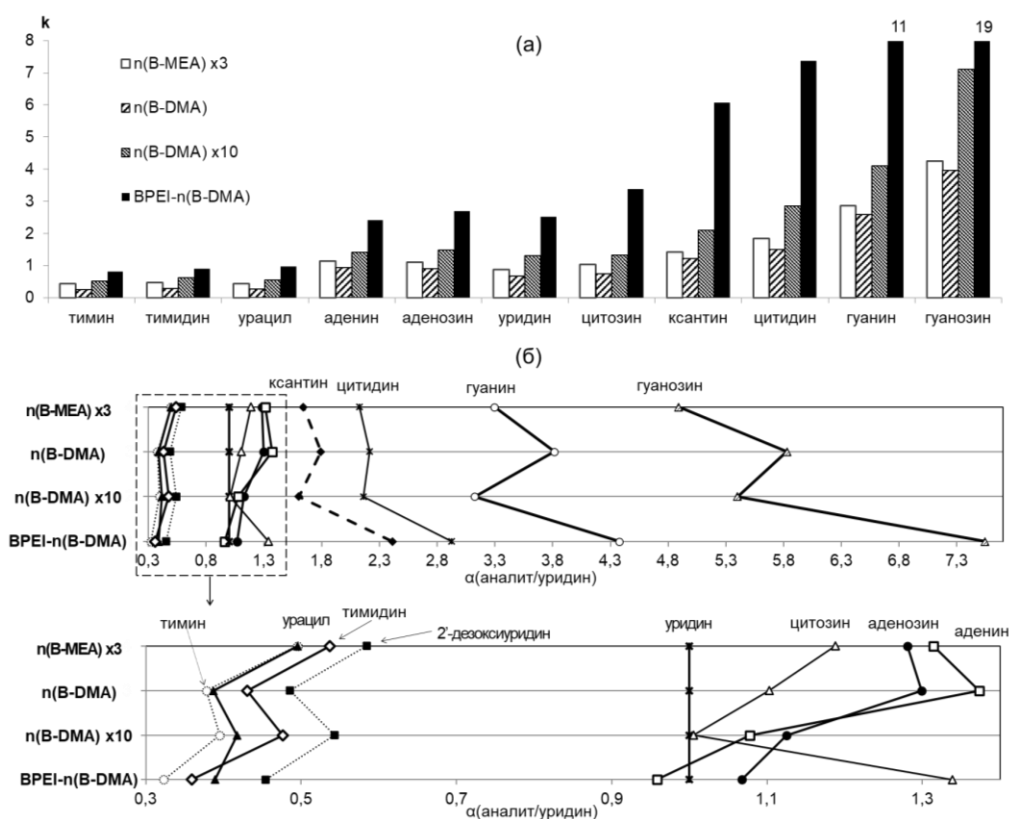


Рис. 36. Факторы удерживания азотистых оснований и нуклеозидов (а) и их коэффициенты селективности α (аналит/уридин) (б) на полученных фазах с привитыми полиэлектролитами. Условия см. гл. 2.7.

Наиболее эффективными оказались фазы — $n(B-MEA) \times 3$ и $n(B-DMA)$, вероятно, за счет меньшей толщины функционального слоя, задействованного в режиме ГИХ (табл. 20). Для достижения лучшей разделяющей способности долю водной фазы уменьшили с 10 до 7% для фаз $n(B-DMA)$ и $n(B-DMA) \times 10$. В целом,

разделяющая способность увеличивалась с ростом $k(U)$ (рис. 37). Так, фазы с промежуточной гидрофильностью позволяли разделить 7 аналитов, $n(\text{B-DMA}) \times 10$ — 9, а BPEI-n(B-DMA) — 10.

Таблица 20. Эффективность азотистых оснований и нуклеозидов и коэффициенты асимметрии их пиков для полученных фаз с привитыми полиэлектролитами. Условия см. гл. 2.7.

Сорбент	$n(\text{B-MEA}) \times 3$		$n(\text{B-DMA})$		$n(\text{B-DMA}) \times 10$		BPEI-n(B-DMA)	
	N, тт/м	As	N, тт/м	As	N, тт/м	As	N, тт/м	As
тимин	23500	1,0	23000	1,2	16500	1,1	16500	0,8
урацил	24000	1,0	23500	1,2	17000	1,2	17500	0,8
тимидин	19000	1,0	19000	1,2	13500	1,1	11000	0,9
2'-дезоксиуридин	19000	0,9	19500	1,1	14000	1,1	12000	0,8
5'-метилуридин	18500	1,0	—	—	13500	1,1	10500	0,8
уридин	19000	1,0	19500	1,2	13000	1,1	11500	0,8
цитозин	22500	0,9	23000	1,2	15500	1,1	17000	0,8
аденин	19000	0,9	21500	1,1	13000	1,3	15000	0,8
аденозин	18000	1,0	18500	1,2	13000	1,1	10500	0,8
видарабин	17500	0,9	—	—	13000	1,1	10500	0,8
ксантин	20000	0,9	20500	1,2	12000	1,1	13500	0,8
цитидин	17500	0,9	18500	1,2	13000	1,1	13000	0,8
гуанин	19500	0,9	20500	1,2	14000	1,1	14500	0,8
гуанозин	15000	0,9	16500	1,2	12000	1,1	13000	0,8

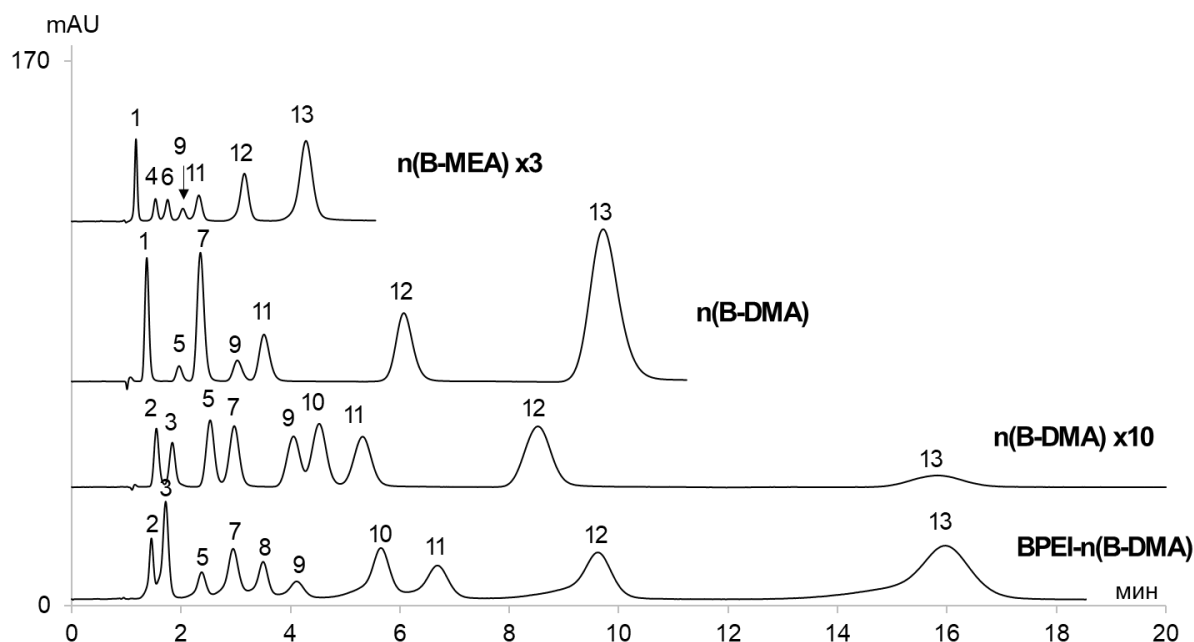


Рис. 37. Хроматограммы разделения смесей азотистых оснований и нуклеозидов на фазах с привитыми полиэлектролитами. Условия: Элюент: CH_3CN – 20 мМ АФБ, pH 3,0: $n(\text{B-DMA})$ и $n(\text{B-DMA}) \times 10$ – 93:7, об. %, $n(\text{B-MEA}) \times 3$ и BPEI-n(B-DMA) – 90:10, об. %. Другие условия см. гл. 2.7. 1 – урацил, 2 – тимин, 3 – 2'-деоксиуридин, 4 – уридин, 5 – 5'-метилуридин, 6 – аденин, 7 – аденозин, 8 – цитозин, 9 – видарабин, 10 – ксантин, 11 – цитидин, 12 – гуанин, 13 – гуанозин.

При исследовании удерживания водорастворимых витаминов вновь наблюдалось несоответствие: их факторы удерживания на колонке $n(\text{B-MEA}) \times 3$ превышали таковые на более гидрофильной $n(\text{B-DMA})$ (рис. 38а). Для остальных фаз их удерживание согласовывалось с $k(U)$. Почти для всех сорбентов наблюдали близкие и высокие селективности по парам $\text{B}_6/\text{никотинамид}$ и B_2/B_6 , а для фазы с привитым ПЭИ они дополнительно возрастали (рис. 38б). В то же время с ростом $k(U)$ для пары C/B_{12} можно отметить повышение селективности, а для пары никотиновой/аскорбиновой кислот — снижение. На всех фазах предсказуемо не удерживался положительно заряженный витамин B_1 , что говорит о невозможности их использования для его определения.

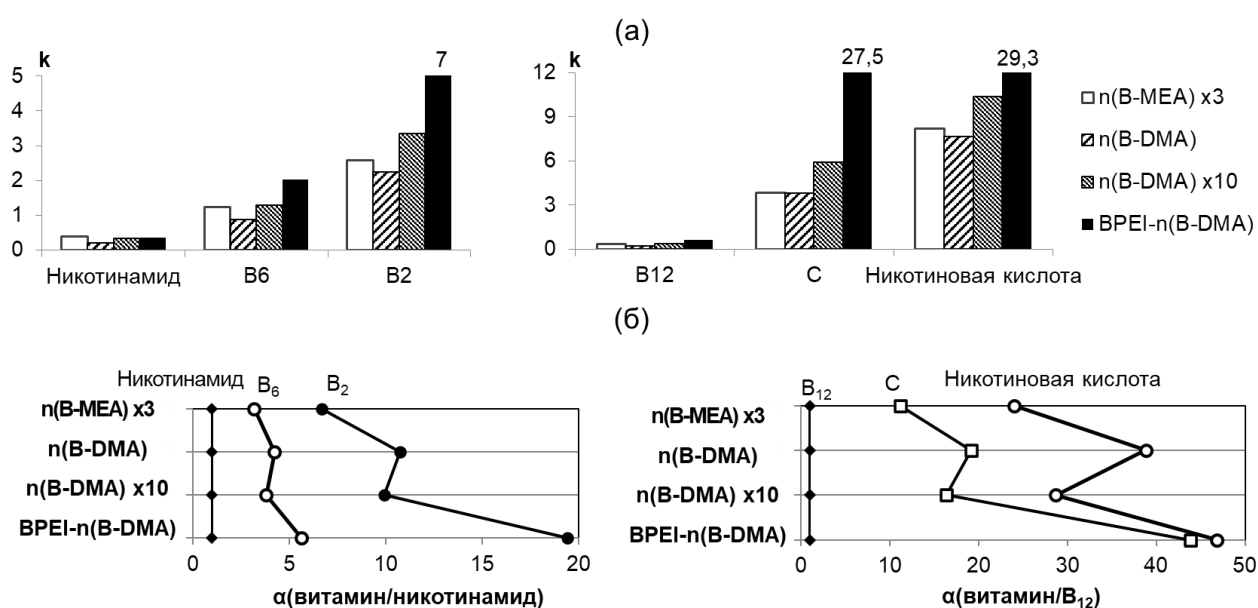


Рис. 38. Факторы удерживания витаминов (а) и их коэффициенты селективности $\alpha(\text{витамин}/\text{никотинамид})$ для слабоудерживаемых и $\alpha(\text{витамин}/\text{B}_{12})$ для сильноудерживаемых (б) на полученных фазах с привитыми полиэлектролитами. Условия см. гл. 2.7.

Полученные сорбенты характеризовались близкой эффективностью по сильноудерживаемым витаминам, однако наибольшая эффективность по слабоудерживаемым анализам достигалась на фазах $n(\text{B-DMA})$ и $n(\text{B-MEA}) \times 3$ (табл. 21). Все сорбенты позволяли с хорошим разрешением разделить 6 водорастворимых витаминов в градиентном режиме (рис. 39). При этом использование фазы $n(\text{B-MEA}) \times 3$ с наименьшим $k(U)$ приводит к уменьшению времени анализа до 12 мин.

Таблица 21. Эффективность водорастворимых витаминов и коэффициенты асимметрии их пиков для полученных фаз с привитыми полиэлектrolитами. Условия см. гл. 2.7.

Сорбент	n(B-MEA) x3		n(B-DMA)		n(B-DMA) x10		BPEI-n(B-DMA)	
	N, тт/м	As	N, тт/м	As	N, тт/м	As	N, тт/м	As
Никотинамид	20000	1,0	21500	1,2	16500	1,2	4500	1,1
B ₆	20500	1,2	17500	1,5	14000	1,3	11500	0,8
B ₂	14500	1,0	14500	1,2	11000	1,1	8000	0,9
B ₁₂	7500	1,2	9000	1,3	10500	1,5	8500	1,1
C	24000	1,1	27500	1,3	22000	1,1	19500	0,7
Никотиновая кислота	23500	1,0	24500	1,4	15000	1,1	25000	0,7

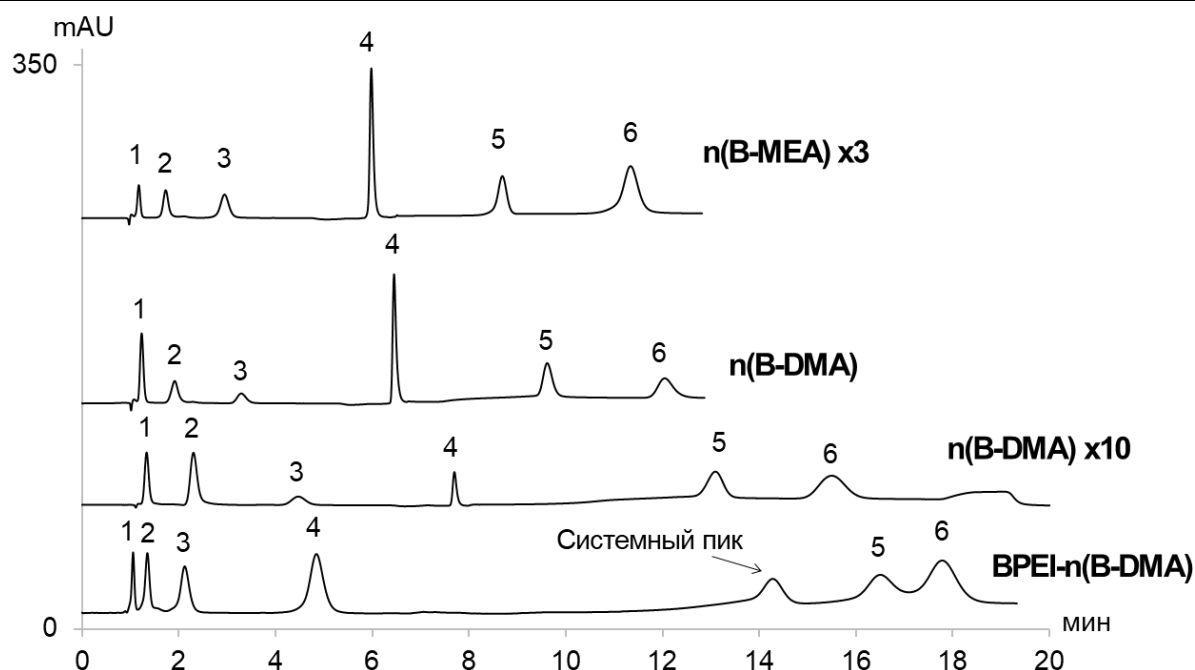


Рис. 39. Хроматограммы разделения 6 водорастворимых витаминов на фазах с привитыми полиэлектrolитами. Условия: Элюент: CH₃CN – 100 мМ АФБ, pH 3,0; градиентное элюирование: n(B-DMA): 0-4 мин — 7% буферного раствора, 4-5,5 мин — 7-25% буферного раствора; n(B-DMA) x10: 0-5 мин — 7% буферного раствора, 5-7 мин — 7-25% буферного раствора; n(B-MEA) x3: 0-3,5 мин — 7% буферного раствора, 3,5-5 мин — 25% буферного раствора; BPEI-n(B-DMA): 0-3 мин — 15% буферного раствора, 3-4,5 мин — 15-20% буферного раствора, 5,5-7 мин — 20-35% буферного раствора. Другие условия см. гл. 2.7. 1 – никотинамид, 2 – B₆, 3 – B₂, 4 – B₁₂, 5 – C, 6 – никотиновая кислота.

Последним классом, удерживание которого изучали в режиме ГИХ на сорбентах с привитыми полиэлектrolитами, были углеводы. Их порядок элюирования согласовывался с logP, а рост факторов удерживания — с увеличением k(U) фаз (рис. 40а). Можно отметить значительный рост селективности по отношению к сахарам при увеличении k(U) (рис. 40б). В частности, сорбенты n(B-DMA) x10 и BPEI-n(B-DMA) позволяют разделить критическую пару мальтоза/лактоза, что не было возможно на фазах с меньшей гидрофильностью. Для пиков ксилозы,

глюкозы, лактозы и мальтозы отмечено раздвоение на всех фазах, что связано с их существованием в мутаротационном равновесии между α - и β -аномерными формами [121] и говорит о наличии у сорбентов с привитыми полиэлектролитами аномерной селективности. Наименее выражено раздвоение пиков для фазы $n(\text{B-DMA}) \times 10$, о чём свидетельствовали наибольшая эффективность и симметрия пиков сахаров (табл. 22).

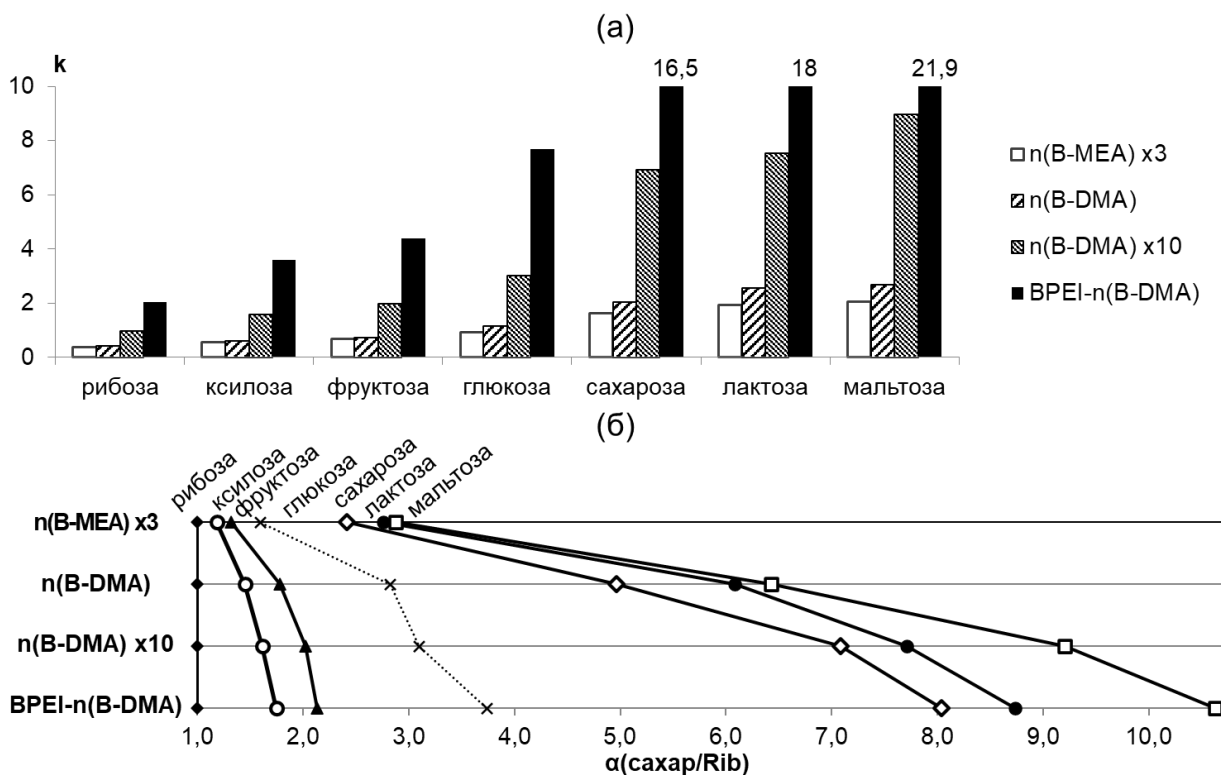


Рис. 40. Факторы удерживания сахаров (а) и их коэффициенты селективности $\alpha(\text{сахар/Rib})$ (б) на полученных фазах с привитыми полиэлектролитами. Условия см. гл. 2.7.

Таблица 22. Эффективность сахаров и коэффициенты асимметрии их пиков для полученных фаз с привитыми полиэлектролитами. Условия см. гл. 2.7.

Сорбент	$n(\text{B-MEA}) \times 3$		$n(\text{B-DMA})$		$n(\text{B-DMA}) \times 10$		BPEI- $n(\text{B-DMA})$	
	N, тт/м	As	N, тт/м	As	N, тт/м	As	N, тт/м	As
рибоза	12500	1,0	14500	1,2	12000	1,2	8500	1,3
ксилоза	6000	0,9	3000	0,9	10000	1,1	5000	0,9
фруктоза	13000	1,0	13500	1,3	10000	1,1	10500	0,9
глюкоза	—	—	5000	1,6	7500	1,2	4500	0,9
сахароза	11000	0,8	12000	1,3	8500	1,0	10000	0,9
лактоза	4500	0,8	3000	1,5	9000	1,0	7000	0,9
мальтоза	—	—	—	—	9000	1,2	10500	0,8
раффиноза	10500	1,1	—	—	10000	1,1	15500	0,8

На фазах $n(\text{B-MEA}) \times 3$ и $n(\text{B-DMA})$ удавалось разделить лишь 4 сахара, что связано как с их невысоким удерживанием, так и с низкой эффективностью некоторых сахаров из-за аномерии. В то же время колонка BPEI- $n(\text{B-DMA})$ позволила

разделить 6 сахаров за 14 мин с использованием элюента с 20% водной фазы (рис. 41). Для увеличения экспрессности анализа на колонке n(B-DMA) x10 повысили долю водной фазы в элюенте с 15 до 17 %, а для ускорения кинетики мутаротации аномеров — температуру колонки с 30 до 40°C. В результате на ней удалось разделить смесь 7 сахаров за 14 мин.

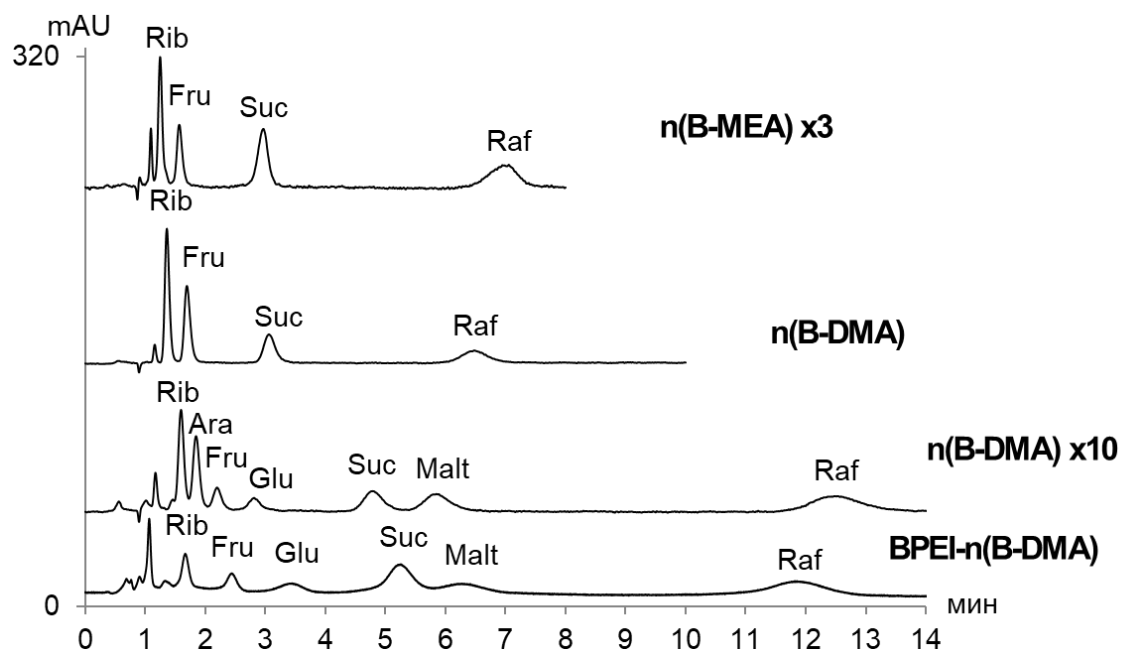


Рис. 41. Хроматограммы разделения смесей сахаров на фазах с привитыми полиэлектролитами. Условия: Элюент: CH₃CN – H₂O: n(B-DMA) – 85:15, об. %, n(B-DMA) x10 – 83:17, об. %, n(B-MEA) x3 – 88:12, об. %; BPEI-n(B-DMA) – 80:20, об. %. Температура колонки: 30°C для всех, кроме n(B-DMA) x10 – 40°C. Другие условия см. гл. 2.7.

Таким образом, показаны перспективы использования полученных анионообменников с привитыми полиэлектролитами не только в режиме ИХ с подавлением, но и в режиме ГИХ. Наибольшей гидрофильностью и наиболее высокой степенью экранирования обладает анионообменник с привитым полиамином и полиэлектролитами. Увеличение количества реагентов при синтезе полиэлектролитов и плотности прививки полиэлектролитов позволяет повысить гидрофильность, разделяющую способность и эффективность сорбентов, а также улучшить форму пиков некоторых аналитов, например, гидрофобных аминокислот.

3.1.3. Исследование хроматографических свойств в режиме ОФ ВЭЖХ

Как многократно отмечалось выше, аналиты могут вступать во взаимодействия с гидрофобной поверхностью матрицы, которые в режимах ИХ и ГИХ чаще всего считаются нежелательными. В то же время на сорбентах на основе ПС-ДВБ возможно

разделение гидрофобных соединений в режиме ОФ ВЭЖХ. Применение полученных фаз с привитыми полиэлектролитами в данном режиме показали на примере разделения смеси алкилбензолов. Порядок элюирования алкилбензолов и рост их удерживания с уменьшением содержания ацетонитрила в подвижной фазе с 90 до 50% подтверждают их удерживание в ОФ режиме.

Наименьшее удерживание алкилбензолов наблюдалось на фазе с привитым ПЭИ с наибольшей гидрофильностью в ИХ и ГИХ (рис. 42а). Для остальных сорбентов можно отметить корреляцию с $k(U)$ для алкилбензолов с короткими радикалами, и несогласование с ним для алкилбензолов с более длинными цепями, что вероятно связано с заменой МЭА на более гидрофобный ДМА. Все сорбенты характеризовались близкой селективностью и позволяли разделить смесь 7 алкилбензолов за 6-7 мин (рис. 42б, 42в). Повысить разрешение пиков возможно за счёт увеличения доли воды в подвижной фазе. Наибольшей эффективностью и симметрией характеризовалась фаза с гидрофильными полиэлектролитами $n(\text{B-MEA}) \times 3$ (табл. 23). В то время как фаза с привитым полиамином и полиэлектролитами обладала самой низкой эффективностью, что связано с затруднённым массопереносом и согласуется с данными в режиме ИХ и ГИХ.

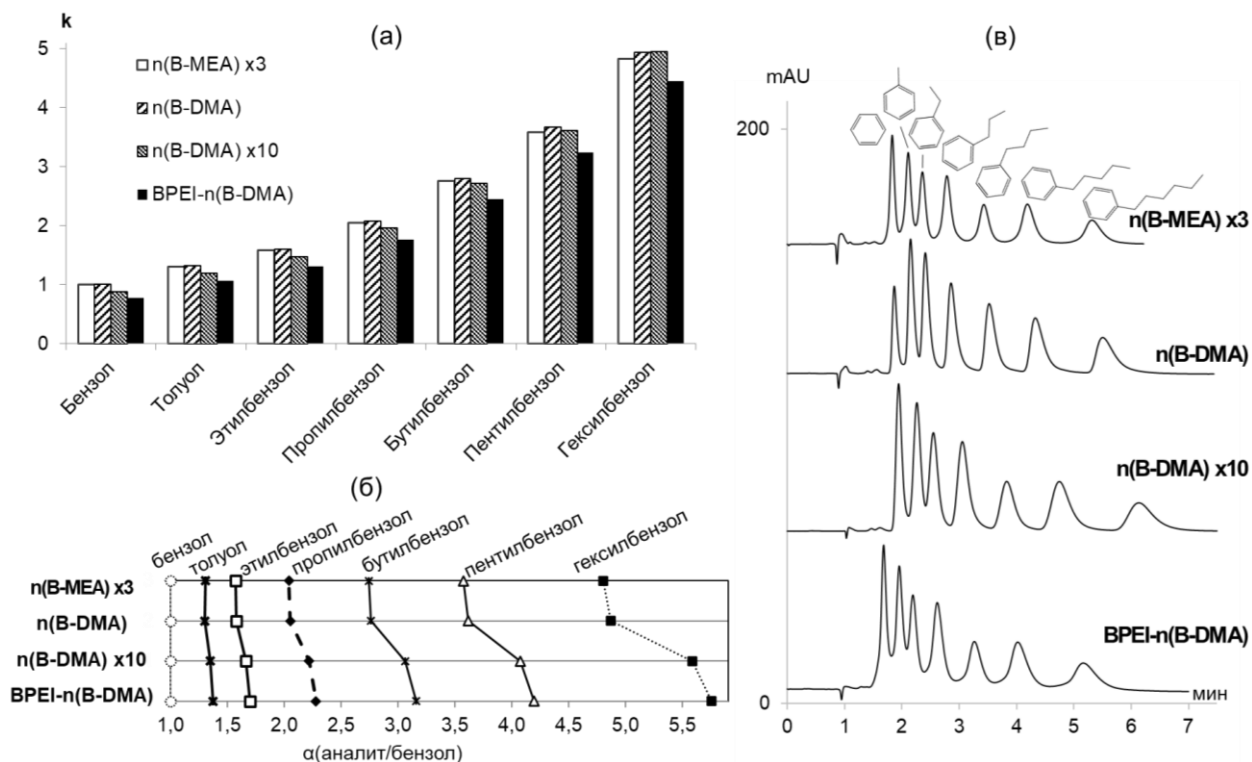


Рис. 42. Факторы удерживания алкилбензолов (а), их коэффициенты селективности α (аналит/бензол) (б) и хроматограммы разделения смеси 7 алкилбензолов (в) на полученных фазах с привитыми полиэлектролитами. Условия см. гл. 2.7.

Таблица 23. Эффективность алкилбензолов и коэффициенты асимметрии их пиков для полученных фаз с привитыми полиэлектролитами. Условия см. гл. 2.7.

Сорбент	n(B-MEA) x3		n(B-DMA)		n(B-DMA) x10		BPEI-n(B-DMA)	
	N, тт/м	As	N, тт/м	As	N, тт/м	As	N, тт/м	As
Аналит								
Бензол	24500	0,9	25500	1,3	17500	1,2	15500	—
Толуол	21500	0,9	25000	1,3	17500	1,1	13000	—
Этилбензол	22000	1,1	23000	1,4	16500	1,3	12000	—
Пропилбензол	21000	1,1	19000	1,7	12500	1,5	13000	1,1
Бутилбензол	20500	1,0	18500	1,6	12000	1,4	13000	1,1
Пентилбензол	18500	1,0	16500	1,8	10500	1,5	10500	1,1
Гексилбензол	17000	1,0	15000	1,8	9500	1,6	9000	1,1

Таким образом, возможность использования многофункциональных сорбентов на основе ПС-ДВБ в режиме ОФ ВЭЖХ показана на примере разделения алкилбензолов. Наибольшей гидрофильностью обладал сорбент с привитым полиамином и полиэлектролитами, о чём свидетельствует наименьшее удерживание алкилбензолов.

Таким образом, продемонстрированы возможности использования полученных фаз с привитыми полиэлектролитами на основе химически модифицированного ПС-ДВБ в трёх режимах ВЭЖХ. Выявлены пути повышения ёмкости и гидрофильности подобных фаз за счёт исследования влияния условий синтеза на хроматографические параметры в режиме ИХ с подавлением. Разработанные многофункциональные сорбенты по сравнению с ранее описанным в работе [43] гиперразветвленным анионообменником на основе аналогично аминированного ПС-ДВБ обеспечивают близкую разделяющую способность и эффективность в режиме ИХ с подавлением. Кроме того, они характеризуются более высокой селективностью и эффективностью разделения по отношению к нескольким классам аналитов как в режиме ГИХ, так и в режиме ОФ ВЭЖХ.

Несмотря на малое количество сшивок в структуре функционального слоя синтезированных фаз и дополнительные предложенные пути его гидрофилизации, фазы с привитыми полиэлектролитами менее гидрофильны и в режиме ИХ характеризуются меньшей степенью экранирования матрицы по сравнению с гиперразветвленными [43,69]. С другой стороны, показано, что экранирование матрицы с помощью ПЭИ позволяет увеличить степень гидрофилизации и в режиме ИХ, и в ГИХ, поэтому на следующем этапе работы исследовали возможности фаз с привитым ПЭИ, кватернизованным глицидолом.

3.2. Сорбенты с привитыми ПЭИ, кватернизованным глицидолом²

Ранее показано [104], что экранирование матрицы ПЭИ с его последующей кватернизацией глицидолом позволяет получить достаточно гидрофильный анионообменник, подходящий для разделения сильноудерживаемых анионов. Однако на данном сорбенте исследовано удерживание узкого круга анионов, а возможность разделения полярных аналитов в режиме ГИХ не оценивалась. Кроме того, как ранее упоминалось, глицидол может полимеризоваться в функциональном слое, и за счёт выбора условий реакции алкилирования можно варьировать соотношение между количествами глицидола, участвующими в процессах кватернизации и полимеризации. В связи описанными в разделе 3.1. успешными результатами тестирования фазы с привитыми ПЭИ и полиэлектролитами интерес представляет выявить, возможно ли за счёт кватернизации ПЭИ глицидолом получить более гидрофильный сорбент для использования фаз в режиме ГИХ, а также обеспечит ли такой функциональный слой лучшее экранирование гидрофобной матрицы. На первом этапе исследовали влияние таких условий синтеза, как количество глицидола, температура и продолжительность синтеза.

3.2.1. Исследование хроматографических свойств в режиме ИХ с подавлением

3.2.1.1. Влияния условий синтеза: количества глицидола, температуры и времени синтеза

Сорбент ВРЕИ-GI x1, полученный в предложенных в статье [104] условиях, служил прототипом для исследования влияния условий синтеза на свойства анионообменников. При синтезе других фаз увеличивали температуру синтеза, его продолжительность или количество глицидола (табл. 4). В качестве подвижной фазы в режиме ИХ с подавлением при исследовании удерживания стандартных анионов и оксогалогенидов использовали 8 мМ КОН. Для большинства анионообменников значения селективностей, характеризующие гидрофильность сорбентов и степень экранирования матрицы, изменялись незначительно (табл. 24). Такое изменение находится в пределах погрешности и указывает на близкую гидрофильность данных

² При подготовке данной и последующих глав диссертации использованы следующие публикации, выполненные автором лично или в соавторстве, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

2. Горбовская А.В., Попкова Е.К., Ужель А.С., Шпигун О.А., Затираха А.В. Сорбенты на основе полистирол-дивинилбензола с привитым гидрофилизированным полиэтиленимином для ионной и гидрофильной хроматографии // Журн. аналит. химии. 2023. Т. 78. №6. С. 507-519. 50%.

неподвижных фаз. Следовательно, для значительного повышения гидрофильности таких сорбентов, изменения количества глицидола, времени и температуры синтеза недостаточно. Стоит отметить, что среди исследуемых факторов температура, также как и для сорбентов с привитыми полиэлектролитами, оказывает наибольшее влияние на степень гидрофилизации и экранирования ароматической матрицы при разделении анионов. Так, наибольшей гидрофильностью обладал сорбент, полученный при 80°C: по сравнению с ВРЕI-GI 60°C $\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$, $\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{Cl}^-)$ и $\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{NO}_3^-)$ уменьшились на 11, 11 и 9%. По сравнению с наиболее гидрофильными фазами с привитыми полиэлектролитами, описанными в разделе 3.1.1.2., сорбенты с привитым ПЭИ, кватернизованным глицидолом, характеризовались более высокой гидрофильностью и степенью экранирования, о чем свидетельствовали меньшие параметры гидрофильности даже для наименее гидрофильной фазы-прототипа ВРЕI-GI x1.

Таблица 24. Факторы удерживания хлорида и коэффициенты селективности по парам, отражающим степень гидрофилизации функционального слоя, в зависимости от условий синтеза. Элюент: 8 мМ КОН

Сорбент	$k'(\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$	$\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{NO}_3^-)$
Влияние количества глицидола						
ВРЕI-GI x1	0,6	3,38	1,33	1,42	4,56	1,35
ВРЕI-GI x3	1,3	3,25	1,29	1,34	4,21	1,29
ВРЕI-GI x10	2,4	3,38	1,25	1,30	4,27	1,26
Влияние температуры синтеза						
ВРЕI-GI 60°C	1,3	3,25	1,29	1,34	4,21	1,29
ВРЕI-GI 70°C	2,0	3,31	1,25	1,32	4,14	1,25
ВРЕI-GI 80°C	2,3	3,16	1,15	1,27	3,73	1,18
Влияние продолжительности синтеза						
ВРЕI-GI 3 ч	2,0	3,31	1,25	1,32	4,14	1,25
ВРЕI-GI 10 ч	3,6	3,13	1,19	1,27	3,78	1,21
ВРЕI-GI 24 ч	2,7	3,24	1,18	1,26	3,85	1,19

Ёмкость сорбентов оценивали по $k'(\text{Cl}^-)$, так как поведение хлорида определяется только ионообменными взаимодействиями. Влиянием элюирующей силы гидроксид-иона на $k'(\text{Cl}^-)$ можно пренебречь, поскольку все полученные сорбенты демонстрировали близкую гидрофильность. С увеличением количества глицидола и температуры синтеза наблюдался рост ионообменной ёмкости сорбентов (табл. 24). При повышении продолжительности синтеза с 3 до 10 ч $k'(\text{Cl}^-)$ сначала возрастал, а затем снижался для сорбента, синтезированного в течение 24 ч, что может быть связано с протеканием реакции элиминирования по Гофману. Рост ионообменной ёмкости при практически неизменной гидрофильности

свидетельствует о том, что при данных условиях доминирующим процессом является кватернизация аминогрупп ПЭИ глицидолом. При этом увеличение $k'(Cl^-)$, непропорциональное изменению количества глицидола, может быть связано с расходом части оксирана на полимеризацию, в том числе на гомополимеризацию в растворе.

Варьирование условий синтеза привело к незначительным изменениям относительных эффективностей поляризуемых и сильнополяризуемых анионов (табл. 25), что еще раз подтверждает близкую гидрофильность полученных сорбентов. Наиболее любопытным оказался анионообменник ВРЕИ-Г1 х10, для которого наблюдали значительное улучшение симметрии пика хлората при низких абсолютных эффективностях аналитов, которые не удалось значительно изменить при повторном синтезе и упаковке данного сорбента (табл. 7). При повышенной ионообменной ёмкости фазы ВРЕИ-Г1 х10 наблюдаемый эффект может быть объяснен увеличением толщины функционального слоя, что приводит к затруднению массопереноса аналитов.

Таблица 25. Изменение эффективности анионообменников относительно хлорида ($N(An^-)/N(Cl^-)$) и коэффициенты асимметрии пиков (As) в зависимости от условий синтеза. Элюент: 8 мМ КОН для Cl^- , Br^- , NO_3^- , ClO_3^- и 30 мМ КОН для сильнополяризуемых анионов

Сорбент	$N(Cl^-)$, тт/м	Анион	Br^-	NO_3^-	ClO_3^-	I^-	SCN^-	ClO_4^-
Влияние количества глицидола								
ВРЕИ-Г1 х1	25500	$N(An^-)/N(Cl^-)$	0,8	0,8	0,3	0,2	0,1	0,1
		As	1,1	1,3	2,0	1,8	1,9	2,3
ВРЕИ-Г1 х3	31000	$N(An^-)/N(Cl^-)$	0,9	0,8	0,3	0,3	0,2	0,2
		As	1,1	1,2	1,8	1,9	1,9	2,1
ВРЕИ-Г1 х10	19000	$N(An^-)/N(Cl^-)$	0,8	0,5	0,4	—	—	—
		As	0,8	1,0	1,3	—	—	—
Влияние температуры синтеза								
ВРЕИ-Г1 60°C	31000	$N(An^-)/N(Cl^-)$	0,9	0,8	0,3	0,3	0,2	0,2
		As	1,1	1,2	1,8	1,9	1,9	2,1
ВРЕИ-Г1 70°C	29000	$N(An^-)/N(Cl^-)$	0,9	0,7	0,3	0,2	0,2	0,1
		As	1,2	1,2	1,8	1,8	3,1	2,4
ВРЕИ-Г1 80°C	36000	$N(An^-)/N(Cl^-)$	0,9	0,9	0,5	0,3	0,2	0,1
		As	0,8	1,1	1,6	1,3	1,9	2,1
Влияние продолжительности синтеза								
ВРЕИ-Г1 3 ч	29000	$N(An^-)/N(Cl^-)$	0,9	0,7	0,3	0,2	0,2	0,1
		As	1,2	1,2	1,8	1,8	3,1	2,4
ВРЕИ-Г1 10 ч	34500	$N(An^-)/N(Cl^-)$	0,8	0,7	0,3	0,3	0,2	0,1
		As	1,0	1,0	1,7	1,4	2,0	2,4
ВРЕИ-Г1 24 ч	39000	$N(An^-)/N(Cl^-)$	0,8	0,7	0,5	0,2	0,2	0,1
		As	0,9	1,0	1,7	1,4	2,0	1,7

На полученных фазах исследовали поведение стандартных неорганических анионов и оксогоалогенидов. Изменение условий синтеза по сравнению с сорбентом-прототипом привело к росту селективности пары $\text{Cl}^-/\text{ClO}_2^-$, в результате все полученные фазы, кроме ВРЕИ-Г1 х1 и ВРЕИ-Г1 х3, обеспечили их неполное разделение (рис. 43). Для фаз ВРЕИ-Г1 10 ч и ВРЕИ-Г1 24 ч разрешение пары $\text{ClO}_2^-/\text{Cl}^-$ достигало 1,3. Также за счёт варьирования условий синтеза удалось разделить до базовой линии $\text{NO}_2^-/\text{BrO}_3^-$, что невозможно на фазах ВРЕИ-Г1 х1 и ВРЕИ-Г1 х3.

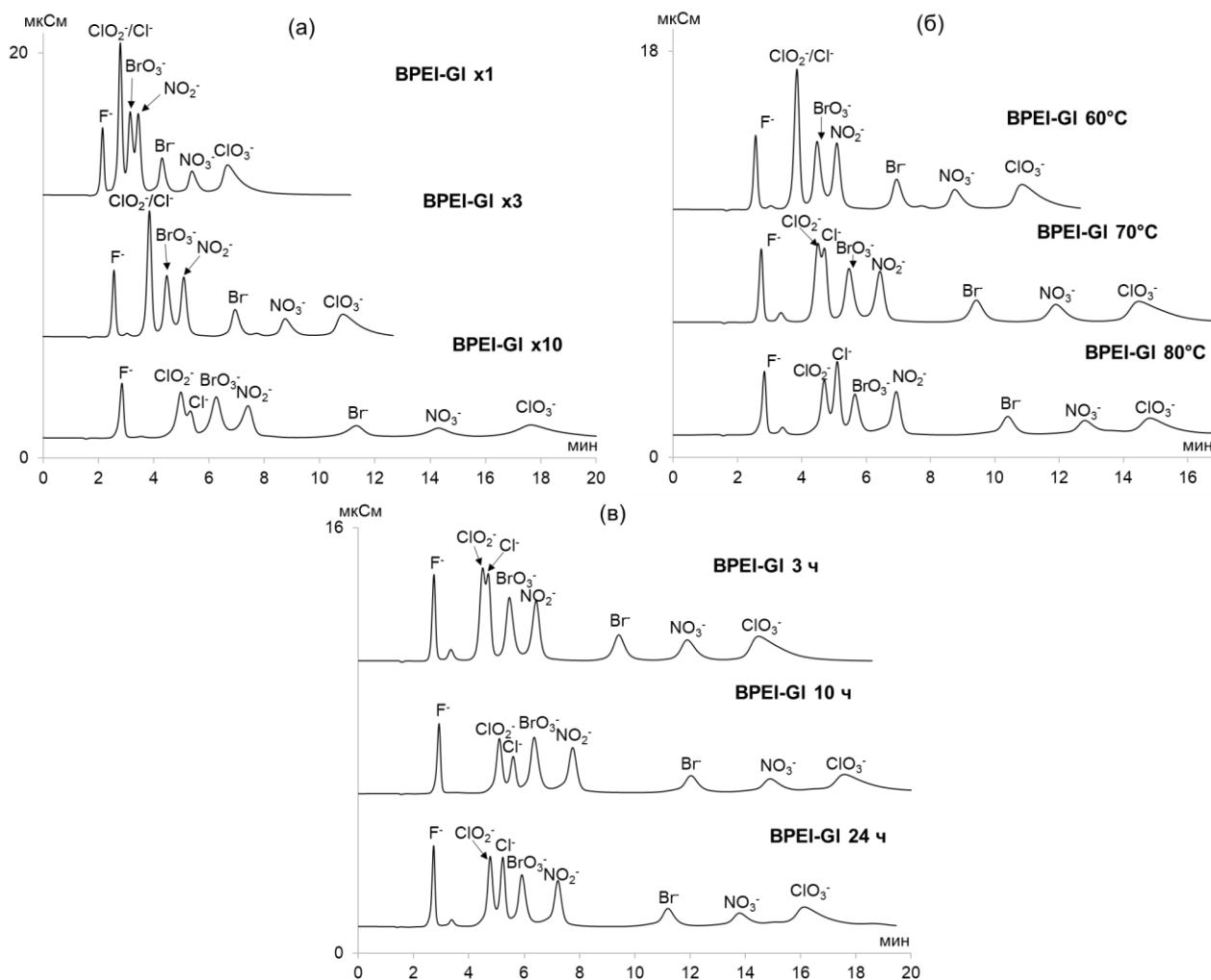


Рис. 43. Хроматограммы смеси стандартных неорганических анионов и оксогоалогенидов на фазах, полученных при варьировании количества глицидола (а), температуры (б) и продолжительности синтеза (в). Элюент: 8 мМ КОН. Скорость потока: 1 мл/мин.

На синтезированных фазах изучали удерживание одно- и двухосновных органических кислот и впервые оксоанионов. Увеличение количества глицидола оказало незначительное влияние на удерживание одноосновных органических кислот, при этом изменение селективностей относительно фторида в основном находилось в пределах допустимого отклонения (рис. 44а). Для большинства исследуемых

двухосновных органических кислот в аналогичном случае наблюдалось снижение относительного удерживания (рис. 44б). Так, сорбент ВРЕI-GI x10 являлся первой ковалентно привитой фазой на основе аминированного ПС-ДВБ, позволившей элюировать малат, тартрат и сукцинат до сульфата. Значительное уменьшение удерживания почти всех двухосновных органических кислот может быть связано с увеличением объёма ионообменных центров, в результате чего объёмные анионы, в особенности наиболее гидрофобных и больших органических кислот, удерживаются слабее на сорбентах с такими функциональными группами. При исследовании удерживания оксоанионов (рис. 44в) относительное удерживание селената, селенита и сульфита с увеличением количества глицидола практически не изменялось, в то же время наблюдалось увеличение удерживания вольфрамата, тиосульфата, хромата и молибдата.

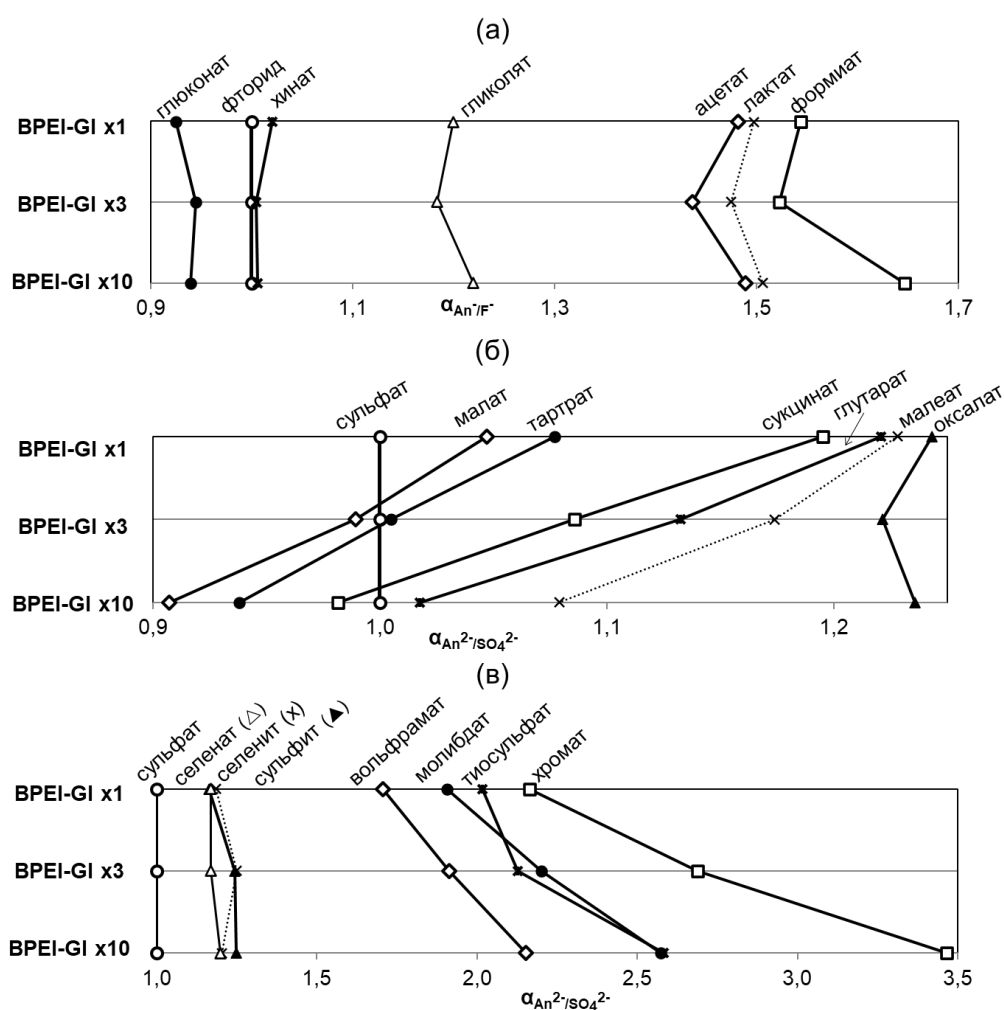


Рис. 44. Селективность по отношению к анионам одно- (а) и двухосновных (б) органических кислот и оксоанионам (в) сорбентов, полученных с разным количеством глицидола. Элюент: (а): 2 мМ КОН; (б): 8 мМ КОН; (в): ВРЕI-GI x1 – 4 мМ КОН, ВРЕI-GI x3 – 8 мМ КОН, ВРЕI-GI x10 – 10 мМ КОН.

Значительного влияния температуры и продолжительности синтеза на удерживание органических кислот, селената, селенита и сульфита не выявлено (рис. 45а, 45б, 45в), что свидетельствует о близких структурах функциональных слоев сорбентов. Что касается остальных оксоанионов, то увеличение температуры синтеза и его продолжительности с 3 до 10 ч, как и увеличение количества глицидола, привело к росту их относительного удерживания, хотя и к менее существенному.

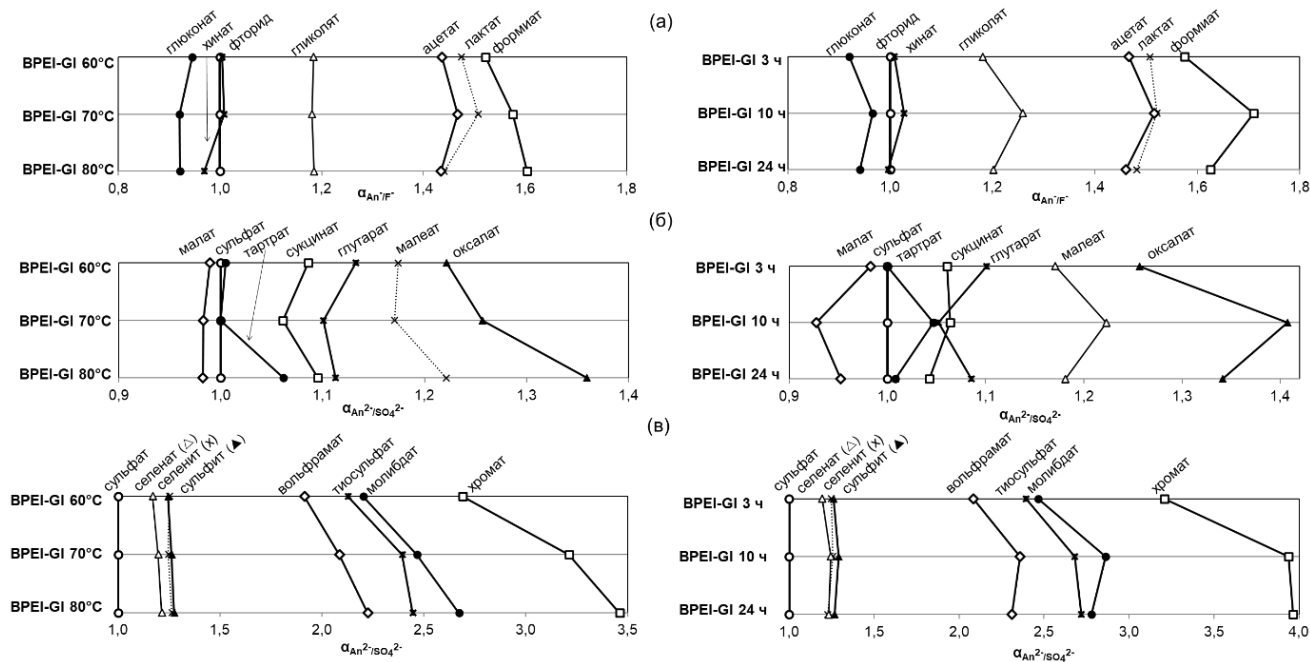


Рис. 45. Селективность по отношению к анионам одно- (а) и двухосновных (б) органических кислот и оксоанионам (в) в зависимости от температуры и продолжительности синтеза. Элюент: (а): 2 мМ КОН; (б): 8 мМ КОН; (в): 8 мМ КОН для всех, кроме BPEI-GI 80°C – 12 мМ КОН, BPEI-GL 10 ч – 15 мМ КОН.

В целом варьирование условий синтеза оказало наибольшее влияние на ионообменную ёмкость — увеличение количества глицидола, температуры синтеза и его продолжительности до 10 ч позволило значительно ее повысить. Увеличение температуры синтеза до 80°C позволило повысить гидрофильность и степень экранирования анионообменников в большей степени, чем при увеличении количества глицидола и продолжительности синтеза, что согласуется с данными работы [73]. По эффективности наиболее сильно отличался сорбент с десятикратным количеством глицидола, при этом он характеризовался сильным размыванием пиков. Кроме того, выявлены тенденции в изменении селективности полученных фаз по неорганическим анионам, оксогалогенидам, органическим кислотам и оксоанионам. Расширена область потенциального применения сорбентов с гидрофилизованным ПЭИ. В частности, впервые изучено поведение оксоанионов на ковалентно привитых

сорбентах, а также получен анионообменник, позволяющий элюировать ряд двухосновных органических кислот до сульфата.

С точки зрения баланса ионообменной ёмкости, гидрофильности и эффективности в качестве оптимальных выбраны следующие условия: трёхкратное количество глицидола по сравнению с исходной методикой, температура синтеза 80°C, продолжительность — 10 ч. Тем не менее, при варьировании данных параметров преобладающим процессом остаётся кватернизация, а для дополнительного повышения гидрофильности и степени экранирования необходимо доминирование процесса полимеризации глицидола. Известно, что глицидол полимеризуется в щелочной среде, поэтому формирование гидрофильного слоя на следующем этапе работы проводили при повышенном рН реакционной среды.

3.2.1.2. Влияние полимеризации глицидола при повышении рН реакционной среды

Влияние добавления щелочи в реакционную среду на хроматографические параметры неподвижных фаз оценили с помощью 4 сорбентов, при синтезе которых варьировали количество глицидола, рН реакционной среды в разные моменты времени, а также продолжительность синтеза (табл. 5). В качестве температуры синтеза выбрали 80°C, при которой удалось получить наиболее гидрофильный в режиме ИХ сорбент в разделе 3.2.1.1. Предположительно, при получении фазы ВРЕI-GI 1 без добавления щелочи глицидол расходуется преимущественно на кватернизацию аминогрупп ПЭИ. При синтезе анионообменника ВРЕI-GI 2 щелочь добавляли через 3 часа после начала синтеза для активации процесса полимеризации непрореагировавшего глицидола. Фазу ВРЕI-GI 3 получали при одновременном добавлении глицидола и щелочи: в этом случае процессы кватернизации и полимеризации идут параллельно и конкурируют. Синтез сорбента ВРЕI-GI 4 вели аналогично ВРЕI-GI 2, однако по прошествии 4 часов добавили вторую порцию глицидола для его полимеризации в щелочной среде в том числе на ранее сформированных функциональных группах. Для разделения стандартных неорганических анионов и оксогалогенидов в качестве элюента использовали 3 мМ КОН для сорбента ВРЕI-GI 3 с добавкой щелочи в начале синтеза, 4 мМ КОН для фазы ВРЕI-GI 4 с двойным количеством глицидола и 8 мМ КОН для сорбентов ВРЕI-GI 2 и ВРЕI-GI 1. Концентрации элюента были подобраны для экспрессного элюирования смеси стандартных неорганических анионов и оксогалогенидов (рис. 46).

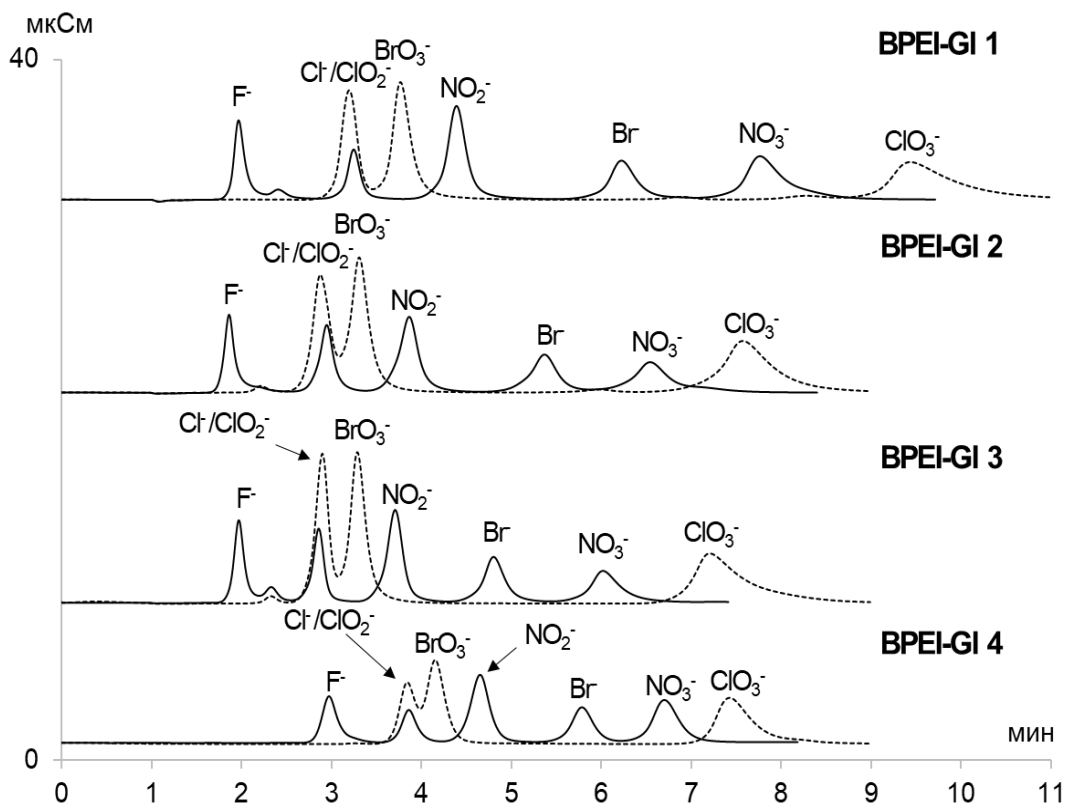


Рис. 46. Хроматограммы стандартных однозарядных анионов и оксогалогенидов на сорбентах, полученных для оценки влияния полимеризации глицидола при повышении pH реакционной среды. Элюент: BPEI-GI 1, BPEI-GI 2 — 8 мМ КОН, BPEI-GI 3 — 3 мМ КОН, BPEI-GI 4 — 4 мМ КОН. Скорость потока: 0,95 мл/мин.

В ряду BPEI-GI 1 > BPEI-GI 2 > BPEI-GI 3 > BPEI-GI 4 почти все предложенные для оценки гидрофильности параметры уменьшались, что говорит о её росте (табл. 26). При сравнении с сорбентом BPEI-GI 1, полученным без добавления щелочи, наибольшее снижение отмечено по $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$ и $\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{Cl}^-)$ для фазы BPEI-GI 4 — на 16 и 22%, соответственно. Данный сорбент также характеризовался максимальной эффективностью по поляризуемым анионам среди сорбентов данной серии и достаточно высокой симметрией пика иодида ($A_s = 1.5$) (табл. 27). Таким образом, анионообменник BPEI-GI 4 показал наименьшие значения по всем параметрам, характеризующим гидрофильность и степень экранирования, среди сорбентов данной серии, а также был сопоставим по ним с наиболее гидрофильными ковалентно привитыми анионообменниками, описанными в литературе [103,106]. Так для фазы, полученной в работе [103], оцененные исходя из хроматограмм $\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{Cl}^-)$ и $\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{NO}_3^-)$ ($\approx 3,3$ и $1,3$) превышали, а $\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$ и $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$ не отличались от таковых для BPEI-GI 4 (Приложение 4).

Таблица 26. Коэффициенты селективности по парам, отражающим степень гидрофилизации функционального слоя, и факторы удерживания хлорида для фаз, полученных для оценки влияния полимеризации глицидола при повышении pH реакционной среды. Элюент: ВРЕI-GI 1, ВРЕI-GI 2 — 8 мМ КОН, ВРЕI-GI 3 — 3 мМ КОН, ВРЕI-GI 4 — 4 мМ КОН

Сорбент	$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$	$\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{NO}_3^-)$	$k'(\text{Cl}^-)^*$
ВРЕI-GI 1	3,09	1,24	1,30	3,87	1,25	2,0
ВРЕI-GI 2	2,91	1,19	1,27	3,46	1,19	1,8
ВРЕI-GI 3	2,76	1,24	1,33	3,42	1,24	0,5
ВРЕI-GI 4	2,60	1,16	1,25	3,00	1,16	0,4

*элюент: 8 мМ КОН.

Таблица 27. Изменение эффективности анионообменников относительно хлорида ($N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$) и коэффициенты асимметрии пиков (As). Элюент: для Cl^- , Br^- , NO_3^- , ClO_3^- ВРЕI-GI 1, ВРЕI-GI 2 — 8 мМ КОН, ВРЕI-GI 3 — 3 мМ КОН, ВРЕI-GI 4 — 4 мМ КОН, для сильнополярзуемых анионов 30 мМ КОН

Сорбент	$N(\text{Cl}^-)$, гт/м	Анион	Br^-	NO_3^-	ClO_3^-	Γ	SCN^-	ClO_4^-
ВРЕI-GI 1	26500	$N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$	0,9	0,8	0,4	0,3	0,2	0,1
		As	1,1	1,3	1,7	2,0	2,2	2,2
ВРЕI-GI 2	19000	$N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$	1,0	1,1	0,6	0,4	0,3	0,2
		As	0,9	0,9	1,2	1,4	1,7	2,2
ВРЕI-GI 3	26000	$N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$	0,9	0,7	0,4	0,3	0,2	0,1
		As	1,1	1,2	1,8	1,8	2,3	2,5
ВРЕI-GI 4	25500	$N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$	1,1	1,1	0,7	0,5	0,4	0,2
		As	1,0	1,1	1,8	1,5	2,1	2,8

Перспективность использования предложенного подхода для повышения степени гидрофилизации сорбентов оценивали путем установления механизма удерживания сильнополярзуемых анионов на сорбенте-прототипе ВРЕI-GI x1 и наиболее гидрофильном ВРЕI-GI 4 с использованием в качестве подвижной фазы КОН с концентрациями от 15 до 60 мМ с шагом 15. Установлено, что зависимости $\lg k'$ от $\lg C$ являются линейными, но на обоих сорбентах практически для всех анионов угловые коэффициенты существенно отличаются от 1 (табл. 28). Это говорит о вкладе неионообменных взаимодействий в удерживание сильнополярзуемых анионов. Следует отметить, что для иодида, перхлората и тетрафторбората удалось добиться приближения углового коэффициента к 1 при переходе к более гидрофильному сорбенту ВРЕI-GI 4. В частности, для тетрафторбората $\text{tg } \alpha = 0,91$ и лежит в интервале $1 \pm 0,1$, что указывает на преимущественно ионообменный механизм его удерживания. При этом для роданида, напротив, наблюдается

уменьшение углового коэффициента. Вероятно, это связано с неравномерным закреплением ПЭИ на поверхности гидрофобной матрицы, в результате чего на поверхности могут оставаться гидрофобные участки полимерной матрицы, не экранированные ни ПЭИ, ни глицидолом.

Таблица 28. Коэффициенты зависимостей $\lg k'$ от $\lg C$ для сильнополяризуемых анионов. Скорость потока: 1 мл/мин

Сорбент	BPEI-GI x1		BPEI-GI 4	
	$\text{tg } \alpha$	R^2	$\text{tg } \alpha$	R^2
BF_4^-	0,89	0,9980	0,91	0,9923
Γ	0,81	0,9997	0,83	0,9990
SCN^-	0,89	0,9954	0,85	0,9966
ClO_4^-	0,77	0,9981	0,87	0,9939

Фаза BPEI-GI 4 характеризовалась не только наименьшими параметрами гидрофильности, но и самым маленьким $k'(\text{Cl}^-)$, из полученных при использовании 8 мМ КОН в качестве элюента (табл. 26). Безусловно, на удерживания хлорида влияет не только ёмкость сорбентов, но и их гидрофильность. Для сорбентов с повышенной гидрофильностью функционального слоя элюирующая сила гидроксид-иона возрастает [13]. Но, как показано выше, наибольшее изменение параметров гидрофильности наблюдалось для сорбента BPEI-GI 4 и не превышало 22%, при этом $k'(\text{Cl}^-)$ уменьшился в 5 раз. Такое существенное снижение удерживания хлорид-иона на фоне менее выраженного роста гидрофильности свидетельствует об уменьшении ионообменной ёмкости.

Во всех случаях повышения pH реакционной среды $k'(\text{Cl}^-)$, а, следовательно, и ёмкость фаз снижались. Это связано с активацией процесса полимеризации глицидола в щелочной среде, в результате глицидол начинает преимущественно расходоваться не на кватернизацию аминогрупп, а на полимеризацию (табл. 5). Образующиеся полимерные фрагменты могут неравномерно закрепляться на поверхности полиамина, а также изолировать часть ионообменных центров, что приводит к снижению динамической ёмкости. Несмотря на использование двукратного количества глицидола, сорбент BPEI-GI 4 обладал наименьшим $k'(\text{Cl}^-)$ среди изученных сорбентов. Предположительно, это связано как со стерическими затруднениями, возникшими из-за дополнительной полимеризации глицидола вокруг ионообменных центров, в результате чего происходит снижение динамической ёмкости, так и с повышением гидрофильности фазы.

Повышение pH реакционной среды оказывает слабое влияние на селективность по отношению к анионам органических кислот и оксоанионам (рис. 47), за исключением сорбента ВРЕI-GI 3. Добавление щелочи одновременно с глицидолом в начале синтеза привело к значительному уменьшению селективности относительно пар оксалат/малеат, малеат/глутарат, оксалат/глутарат: их времена удерживания были практически равны, а селективность по паре малат/сульфат, напротив, возрастает (рис. 47б). Также при добавлении щелочи в начале синтеза происходило резкое снижение относительного удерживания оксоанионов, селективность падала для всех пар исследованных анионов, при этом меняется порядок элюирования селенита относительно сульфата и молибдата относительно тиосульфата (рис. 47в). Тем не менее, с помощью варьирования pH реакционной среды повысить разделяющую способность получаемых фаз относительно данных групп анионов не удалось.

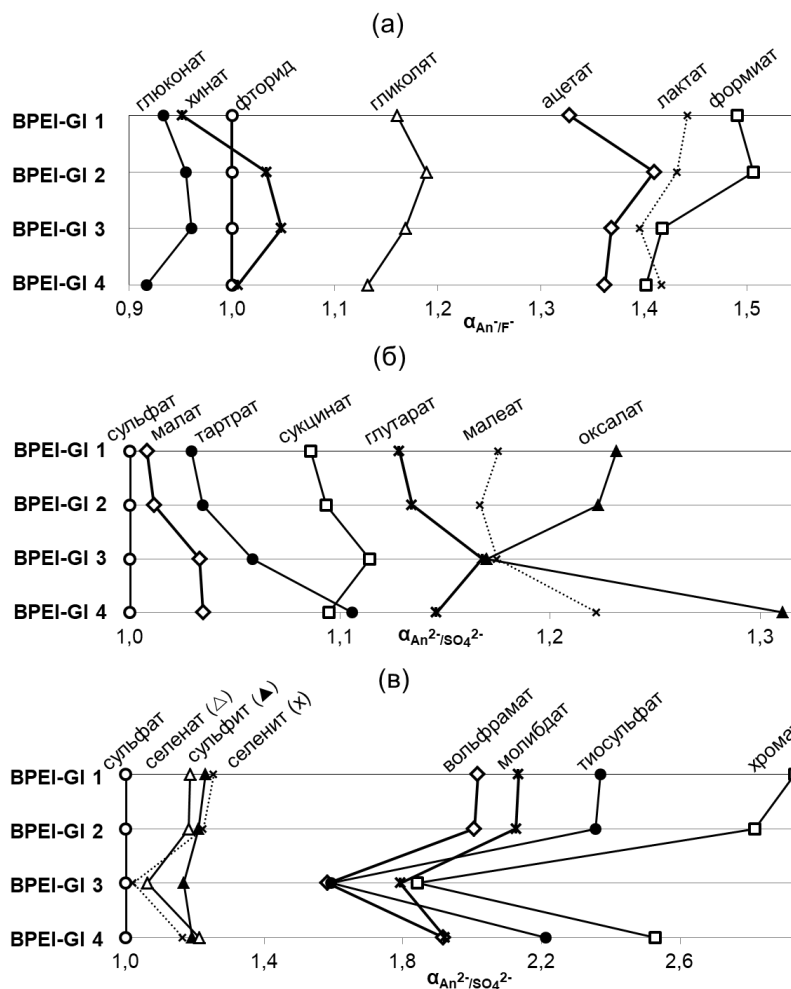


Рис. 47. Селективность по отношению к анионам одно- (а) и двухосновных (б) органических кислот и оксоанионам (в) сорбентов, полученных для оценки влияния полимеризации глицидола при повышении pH реакционной среды. Элюент: (а): 2 мМ КОН, кроме ВРЕI-GI 3 и ВРЕI-GI 4 — 1 мМ КОН; (б): 8 мМ КОН, кроме ВРЕI-GI 3 и ВРЕI-GI 4 — 3 мМ КОН; (в): 3 мМ КОН, кроме ВРЕI-GI 1 — 8 мМ КОН.

Интересным возможным практическим применением полученных сорбентов в режиме ИХ является разделение таких гидрофобных аналитов, как анионы галогенуксусных и алкилфосфоновых кислот. Галогенуксусные кислоты образуются в процессе дезинфекции воды, предназначенной для потребления человеком (питьевая вода, вода бассейнов), в результате реакции между хлором и природными соединениями, такими как гуминовая и фульвовая кислоты [122]. В результате токсикологических исследований установлено, что эти соединения оказывают негативное влияние на здоровье, в частности известно, что дихлоруксусная и трихлоруксусная кислоты вызывают рак у животных [123]. Таким образом, разделение и определение галогенуксусных кислот — важная задача при анализе вод, подвергшихся хлорированию. Наиболее гидрофильный из полученных на данном этапе сорбент ВРЕI-GI 4, упакованный в колонку 100 × 4 мм, позволил разделить анионы 4-х галогенуксусных кислот в присутствии 7-ми стандартных анионов и оксогалогенидов за 23 мин в градиентном режиме элюирования при использовании КОИ в качестве элюента (рис. 48а).

Такие алкилфосфоновые кислоты как глифосат и глюфосинат, представляющие собой неселективные гербициды, находят широкое применение в сельском хозяйстве. Фосфорорганические пестициды тщательно изучают регулирующие органы и агентства из-за их токсичности или предполагаемой канцерогенности, поэтому важно определять концентрацию глифосата и глюфосината, а также их основных метаболитов аминометилфосфоновой кислоты и 3-[гидрокси(метил)-фосфиноил]пропионовой кислоты (3-ГМФП) в объектах окружающей среды [124,125]. Еще одним алкилфосфонатом, используемым в сельском хозяйстве, является регулятор роста растений этефон (2-хлорэтилфосфонат). Полученный в работе сорбент ВРЕI-GI 4 обеспечивал разделение 5-ти указанных алкилфосфонатов в присутствии стандартных анионов и оксогалогенидов в режиме ИХ с кондуктометрическим детектированием (рис. 48б). При этом данная неподвижная фаза может обеспечить высокочувствительное определение алкилфосфоновых и галогенуксусных кислот в сочетании ИХ с МС-детектированием. Условия градиентного элюирования подобраны таким образом, чтобы участки хроматограммы, содержащие пики матричных компонентов (хлорид, сульфат,

фосфат) при возможности и необходимости можно было вырезать для последующего масс-спектрометрического детектирования.

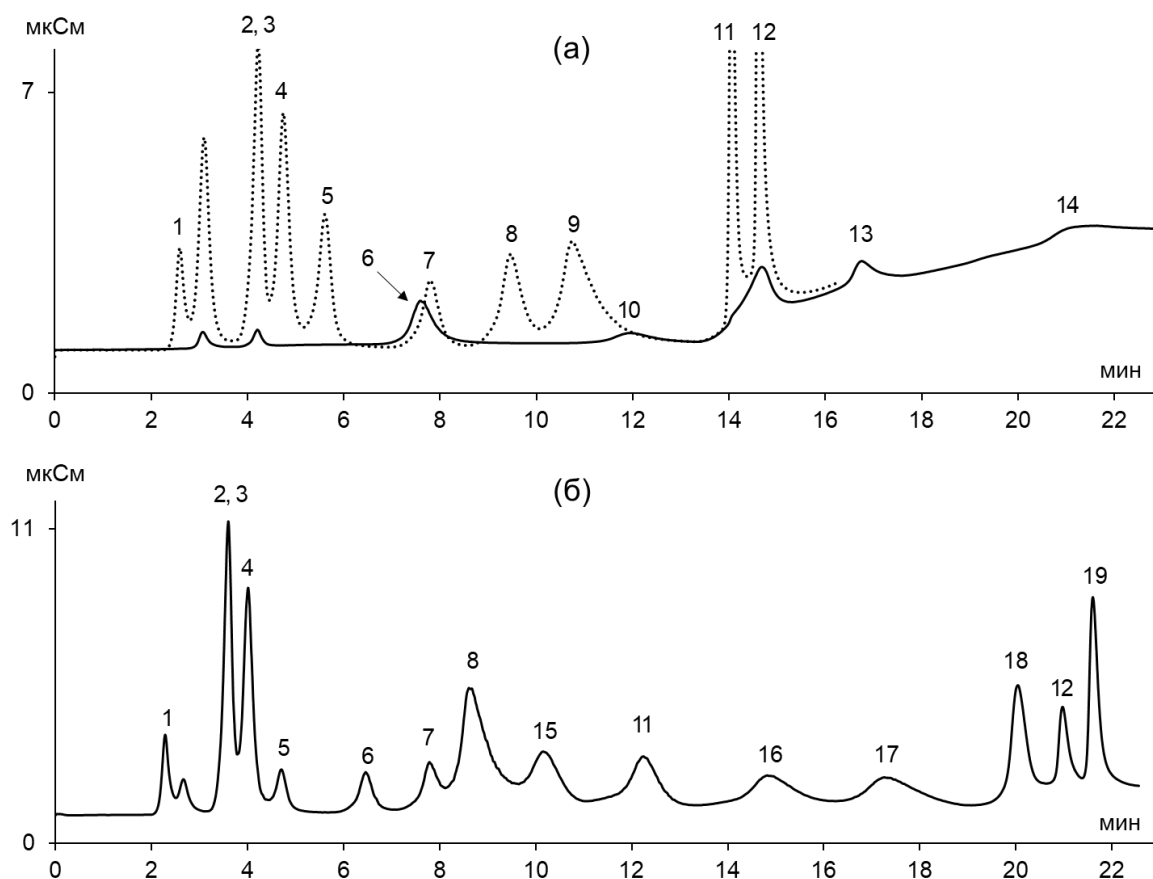


Рис. 48. Хроматограмма смеси стандартных неорганических анионов, оксогоалогенидов и анионов галогенуксусных (а) или алкилфосфоновых кислот (б) на колонке ВРЕI-GI 4: 1 – фторид, 2 – хлорид, 3 – хлорит, 4 – бромат, 5 – нитрит, 6 – монохлорацетат, 7 – бромид, 8 – нитрат, 9 – хлорат, 10 – монобромацетат, 11 – сульфат, 12 – фосфат, 13 – дихлорацетат, 14 – дибромацетат, 15 – 3-ГМФП, 16 – трет-бутилфосфонат, 17 – этефон, 18 – бутилфосфонат, 19 – глифосат. Элюент: (а): 0-12 мин: 2 мМ КОН, 12-15 мин: 2,5-40 мМ КОН, 16-20 мин: 40-60 мМ КОН; (б): 0-17,5 мин: 2,5 мМ КОН, 17,5-27,5 мин: 2,5-40 мМ КОН. Скорость потока: 0,95 мл/мин. Температура колонки: 20°C.

3.2.2. Исследование хроматографических свойств в режиме ГИХ

Для всех полученных в разделе 3.2.1. сорбентов провели тест Танака в режиме ГИХ (табл. 29). Увеличение количества глицидола, температуры и продолжительности синтеза привело к возрастанию $k(U)$ по сравнению с сорбентом-прототипом ВРЕI-GI x1, при этом наибольшие значения $k(U)$ наблюдались для фаз ВРЕI-GI x10, ВРЕI-GI 70°C и ВРЕI-GI 10 ч. При алкилировании аминогрупп ПЭИ глицидолом помимо кватернизации третичных атомов азота также возрастает степень замещения остальных атомов азота, присутствующих в структуре ПЭИ. Предположительно, наибольшие значения $k(U)$ для указанных фаз связаны с

увеличением степени замещения аминогрупп ПЭИ в данных условиях. В результате такие аминогруппы в условиях теста Танака могут протонироваться, за счет чего возрастает гидрофильность фаз и увеличивается удерживание уридина. При дальнейшем увеличении температуры и продолжительности синтеза может возрастать скорость элиминирования по Гофману — отщепление аминогруппы при наличии водорода в β -положении, а также повышается степень полимеризация глицидола, что приводит к снижению числа более замещенных аминогрупп. Увеличение гидрофильности сорбента при повышении степени замещения аминогрупп уже отмечалось для цвиттер-ионных фаз [126]. Повышение pH реакционной среды не оказало влияния на $k(U)$ в случае фазы ВРЕИ-Г1 3, полученной при одновременном добавлении щелочи и глицидола, а для двух других сорбентов привело к его снижению. Таким образом, хотя добавление КОН после глицидола обеспечивает повышение гидрофильности сорбентов в режиме ИХ, в режиме ГИХ наблюдается противоположная тенденция.

Таблица 29. Величины коэффициентов селективности теста Танака для сорбентов с привитым ПЭИ, кватернизованным глицидолом, при варьировании условий синтеза. Условия см. гл. 2.7.

Сорбент	$k(U)$	$\alpha(OH)$	$\alpha(CH_2)$	$\alpha(V/A)$	$\alpha(CX)$	$\alpha(AX)$	$\alpha(Tb/Tr)$
Влияние количества глицидола							
ВРЕИ-Г1 x1	1,10	2,09	1,31	1,46	0	68,3	0,26
ВРЕИ-Г1 x3	1,32	1,93	1,30	1,41	0	59,1	0,31
ВРЕИ-Г1 x10	1,56	1,98	1,31	1,37	0	61,7	0,38
Влияние температуры синтеза							
ВРЕИ-Г1 60°C	1,32	1,93	1,30	1,41	0	59,1	0,31
ВРЕИ-Г1 70°C	1,46	1,92	1,32	1,39	0	56,7	0,34
ВРЕИ-Г1 80°C	1,38	1,86	1,31	1,39	0	52,3	0,37
Влияние продолжительности синтеза							
ВРЕИ-Г1 3 ч	1,46	1,92	1,32	1,39	0	56,7	0,34
ВРЕИ-Г1 10 ч	1,57	1,91	1,34	1,38	0	60,9	0,33
ВРЕИ-Г1 24 ч	1,38	1,86	1,29	1,38	0	56,6	0,43
Влияние полимеризации глицидола при повышении pH реакционной среды							
ВРЕИ-Г1 1	1,01	2,09	1,30	1,43	0	57,0	0,29
ВРЕИ-Г1 2	0,88	2,16	1,32	1,43	0	56,2	0,27
ВРЕИ-Г1 3	1,02	2,07	1,28	1,45	0	55,6	0,31
ВРЕИ-Г1 4	0,77	1,94	1,28	1,41	0	41,8	0,36

Любые изменения количества глицидола, температуры и продолжительности синтеза по сравнению с фазой-прототипом ВРЕИ-Г1 x1 приводят к небольшому

снижению $\alpha(\text{OH})$. Вероятно, это связано с кватернизацией, увеличением степени замещения аминогрупп ПЭИ и снижением их стерической доступности, в результате чего образуется меньшее число водородных связей между ними и содержащими гидроксильные группы аналитами. Изменение условий синтеза слабо влияет на метиленовую селективность и селективность по стереоизомерам. Все полученные положительно заряженные фазы ожидаемо характеризуются отсутствием катионообменной селективности $\alpha(\text{CX})$. Выше показано, что повышение количества добавленного глицидола, температуры и продолжительности синтеза приводит к росту анионообменной ёмкости по сравнению с сорбентом ВРЕИ-Г1 х1. Тем не менее для всех фаз $\alpha(\text{AX})$ снижается, что говорит об уменьшении удерживания п-толуолсульфоната из-за снижения неионообменных взаимодействий с матрицей и о необходимости использования другого маркера в тесте Танака для фаз на основе ПС-ДВБ. Величины $\alpha(\text{Tb/Tr})$ для всех изучаемых фаз меньше единицы, что подтверждает основную природу полученных сорбентов. Повышение рН реакционной среды почти не оказало влияния на другие параметры теста Танака, кроме $k(\text{U})$. Наиболее заметное изменение — уменьшение на 25% наблюдали для анионообменной селективности $\alpha(\text{AX})$ для фазы ВРЕИ-Г1 4, что подтверждает лучшее экранирование матрицы и снижение гидрофобных взаимодействий между ней и п-толуолсульфонатом.

Фазы, полученные в разделе 3.2.1.2. при варьировании рН реакционной среды, характеризовались меньшими значениями $k(\text{U})$ и $\alpha(\text{AX})$ (ВРЕИ-Г1 4) по сравнению с сорбентами, описанными в 3.2.1.1. Предположительно, снижение гидрофильности сорбентов связано с использованием в большинстве случаев меньшего количества глицидола при синтезе, а также с его расходом на полимеризацию, в особенности в случае активации этого процесса за счёт добавления щелочи. В результате сорбенты обладают более низкой ионообменной ёмкостью, а также образуется меньшее число неполностью замещенных аминогрупп ПЭИ, способных к протонированию в условиях теста Танака. Все это ведет к образованию более тонкого водного слоя на поверхности неподвижной фазы, в котором уридин удерживается меньше в режиме ГИХ. Таким образом, повышение числа заряженных групп за счет повышения анионообменной ёмкости, либо за счет повышения числа замещенных аминогрупп ПЭИ ведет к увеличению толщины водного слоя, в то время как внедрение полиглицидола в структуру сорбента уменьшает или не влияет на нее.

Фазы, полученные при варьировании условий синтеза, сравнимы по гидрофильности в режиме ГИХ с сорбентом с привитыми полиэлектролитами $n(\text{B-DMA})$ и в большей степени с $n(\text{B-DMA}) \times 10$, но значительно проигрывают фазе VPEI-n(B-DMA) , характеризующейся примерно в 2 раза большим $k(U)$. Не смотря на наличие в их структуре привитого ПЭИ, сорбенты VPEI-G1 в основном характеризуются меньшей $\alpha(\text{OH})$, чем достигается на $n(\text{B-DMA}) \times 10$ и VPEI-n(B-DMA) , хотя и значительно превышающей значение, полученное для гиперразветвленной фазы [43] (табл. 1). Кроме того, они обладают значительно более низкими значениями $\alpha(\text{AX})$, что подтверждает более высокую степень экранирования матрицы и коррелирует с данными, полученными в ИХ и представленными в разделе 3.2.1.

Из-за незначительного различия в гидрофильности полученные сорбенты демонстрировали близкую селективность по отношению к исследуемым классам полярных аналитов. В связи с этим для демонстрации их возможностей в режиме ГИХ выбрали фазу $\text{VPEI-G1} \times 3$ с промежуточным значением $k(U)$.

Сорбент $\text{VPEI-G1} \times 3$ обеспечивал разделение до базовой линии 8 аминокислот за 17 мин с эффективностью до 14000 тт/м и высокой симметрией пиков, а также неполное разделение пар изолейцин/лейцин и валин/изолейцин (рис. 49а, табл. 30). Для пика наиболее гидрофобного фенилаланина наблюдались достаточно низкая симметрия и наименьшая эффективность. Селективность фазы $\text{VPEI-G1} \times 3$ по отношению к аминокислотам близка к таковой для VPEI-n(B-DMA) . Однако, благодаря лучшей форме пиков и селективности по некоторым парам (например, аспарагин/треонин), а также меньшим факторам удерживания аналитов, она позволила разделить больше аминокислот. Кроме того, сорбент $\text{VPEI-G1} \times 3$ обеспечил разделение 8 нуклеозидов и азотистых оснований за 10 мин с эффективностью от 8500 до 13500 тт/м (рис. 49б, табл. 30). Нуклеозиды удерживались дольше соответствующих им азотистых оснований, кроме пары аденин/аденозин. Последнее, вероятно, связано с недостаточно высокой $\alpha(\text{OH})$ и, следовательно, недостаточной способностью сорбента к образованию водородных связей. Также на данном сорбенте возможно разделение 6 водорастворимых витаминов за 20 мин в градиентном режиме (рис. 49в). Эффективность по витаминам лежала в пределах от 7000 до 19500 тт/м.

Положительно заряженный тиамин предсказуемо не удерживался на данной фазе, что говорит о невозможности ее использования для его определения.

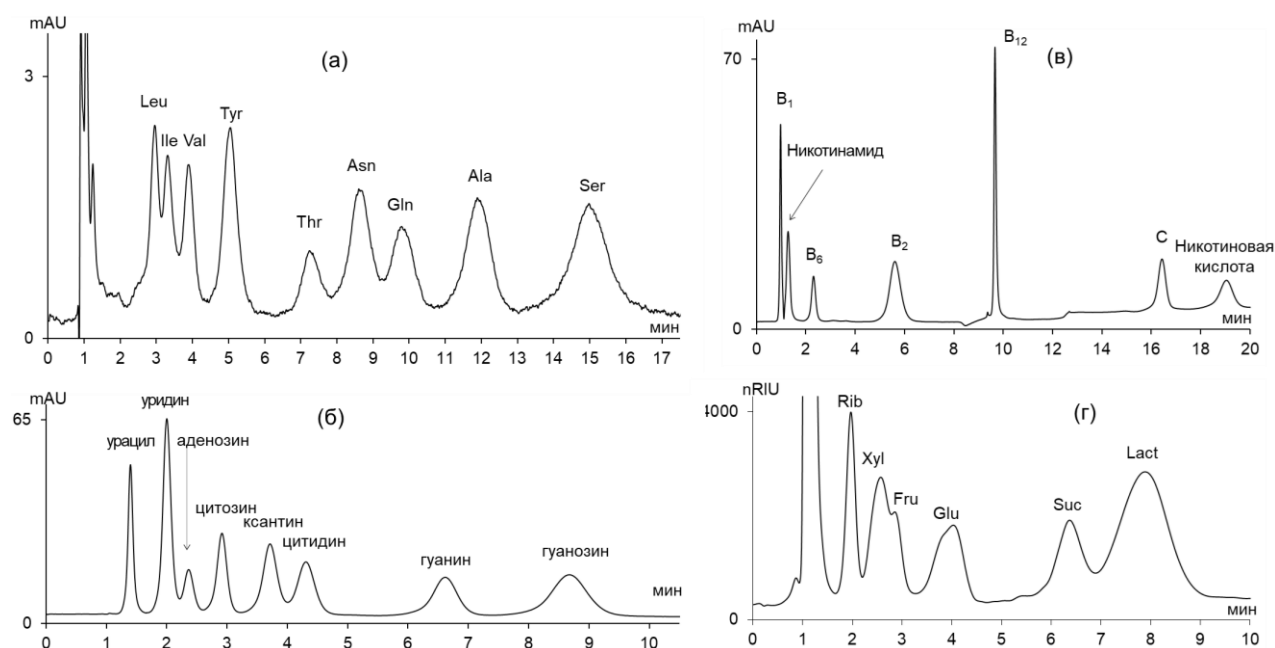


Рис. 49. Хроматограммы модельных смесей аминокислот (а), азотистых оснований и нуклеозидов (б), витаминов (в) и сахаров (г) на сорбенте WPEI-G1 x3. Условия: (а), (б): Условия см. гл. 2.7. (в): Элюент: CH₃CN–100 мМ АФБ, рН 3,0; градиентное элюирование: 0–6,8 мин — 7% буферного раствора, 6,8–8,8 мин — 7–28% буферного раствора, 11–14 мин — 28–38% буферного раствора. Другие условия см. гл. 2.7. (г): Элюент: CH₃CN–H₂O (85:15, об. %). Температура колонки: 25°C. Скорость потока: 0,9 мл/мин. Рефрактометрическое детектирование.

Таблица 30. Эффективность (N, тг/м) и асимметрия пиков (As) для аминокислот, азотистых оснований и нуклеозидов, водорастворимых витаминов и сахаров, полученные для колонки WPEI-G1 x3. Условия см. гл. 2.7.

Аминокислоты			Азотистые основания и нуклеозиды			Витамины		
Аналит	N, тг/м	As	Аналит	N, тг/м	As	Аналит	N, тг/м	As
Phe	6500	1,4	тимин	13500	1,1	Никотинамид	11000	0,9
Leu	9500	1,0	урацил	13000	1,1	B ₆	11500	1,1
Ile	10000	1,0	тимидин	10000	1,1	B ₂	7000	1,1
Val	10500	1,0	2'-дезоксуридин	10000	1,1	B ₁₂	7500	1,2
Pro	13500	0,9	уридин	9500	1,0	C	19500	1,1
Met	9000	1,1	цитозин	12500	0,9	Никотиновая кислота	15000	0,9
Tyr	8000	1,0	аденин	11000	1,1	Сахара		
Thr	9500	1,3	аденозин	10000	1,0	Аналит	N, тг/м	As
Gln	11000	0,9	ксантин	10500	1,0	рибоза	4500	1,0
Asn	10500	0,9	цитидин	9000	1,0	ксилоза	2000	1,4
Gly	14000	0,9	гуанин	11000	0,9	фруктоза	5000	1,1
Ala	13000	0,9	гуанозин	8500	0,9	глюкоза	2000	1,7
Ser	10500	1,0	—	—	—	сахароза	6500	1,3
Asp	10500	0,9	—	—	—	лактоза	3000	1,4
Glu	11000	0,8	—	—	—	мальтоза	2500	1,4

Сорбент ВРЕI-GI х3 обеспечивает разделение 4 сахаров за 10 мин с эффективностью до 6500 тг/м, а также неполное разрешение пар фруктоза/ксилоза и сахароза/лактоза (рис. 49г, табл. 30). Стоит отметить, что данная фаза, также как и ранее описанные фазы с привитыми полиэлектролитами, обладала аномальной селективностью. В результате ВРЕI-GI х3 характеризовался низкой эффективностью по многим сахарам, их пики были уширены, а в случае, например, пика глюкозы наблюдалось даже его раздвоение, что видно на хроматограмме. Данный сорбент обладал наименьшей эффективностью по сахарам по сравнению с фазами с привитыми полиэлектролитами и гиперразветвленным сорбентом, описанным в работе [43].

Факторы удерживания аналитов всех классов на фазе ВРЕI-GI х3 коррелировали в соответствии с $k(U)$ с факторами удерживания сорбентов с привитыми полиэлектролитами, за исключением сорбента $n(B-DMA)$ х10. По сравнению с ним ВРЕI-GI х3 характеризовался большими факторами удерживания витаминов (рис. 50а), некоторых азотистых оснований, нуклеозидов (рис. 50б) и аминокислот (рис. 50в). Это не согласуется с $k(U)$ данных фаз и, вероятно, связано с большей степенью экранирования ВРЕI-GI х3.

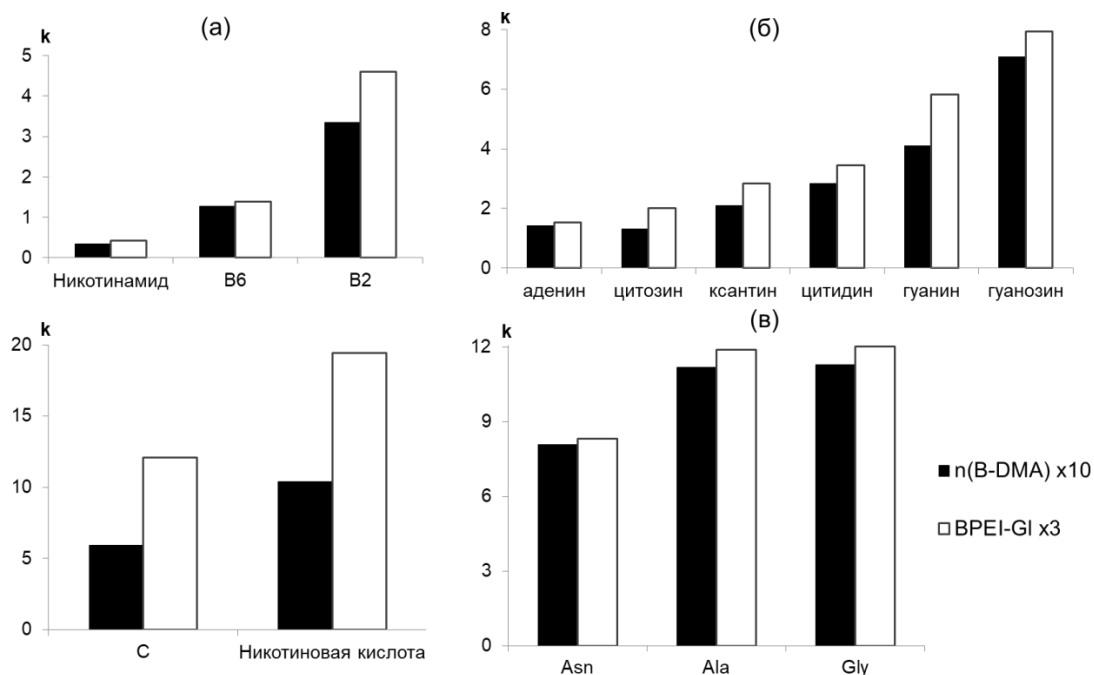


Рис. 50. Сравнение факторов удерживания витаминов (а), азотистых оснований и нуклеозидов (б), а также аминокислот (в) на фазах $n(B-DMA)$ х10 и ВРЕI-GI х3. Условия см. гл. 2.7.

Таким образом, продемонстрирована возможность применения сорбентов с гидрофилизованным ПЭИ в режиме ГИХ для разделения широкого круга полярных

аналитов. Выбранная для изучения неподвижная фаза характеризовалась достаточно высокой разделяющей способностью в режиме ГИХ, в особенности по отношению к аминокислотам, азотистым основаниям и нуклеозидам, а её умеренная гидрофильность обеспечила экспрессное разделение аналитов, однако из-за аномальной селективности она не подходила для эффективного разделения сахаров. Кроме того, исходя из теста Танака, полученные фазы характеризуются более высокой степенью экранирования по сравнению с сорбентами с привитыми полиэлектролитами. Увеличить толщину водного слоя на поверхности таких фаз можно путем увеличения числа заряженных групп при повышении анионообменной ёмкости или числа замещенных аминогрупп ПЭИ. В то же время полимеризация глицидола в структуре сорбента ведет к снижению или не влияет на гидрофильность сорбентов в режиме ГИХ.

Таким образом, получены сорбенты на основе ПС-ДВБ с привитым ПЭИ, кватернизованным глицидолом, для ИХ и ГИХ. Варьирование условий синтеза (количества глицидола, температуры и продолжительности синтеза) позволяет управлять ёмкостью и селективностью анионообменников, при этом гидрофильность фаз меняется незначительно. В то же время варьирование рН реакционной среды не оказывает значительного влияния на селективность, приводит к снижению ёмкости и росту степени экранирования и гидрофильности в режиме ИХ. Подход, в котором последовательно идут этапы кватернизации ПЭИ глицидолом в нейтральной среде, а затем полимеризация в щелочной, показал себя лучшим среди рассмотренных с точки зрения повышения степени гидрофилизации сорбентов в режиме ИХ. Однако, продемонстрировано, что использовать полимеризацию глицидола в функциональном слое для повышения гидрофильности фаз в режиме ГИХ неперспективно.

Несмотря на выявленные тенденции, даже наиболее гидрофильный сорбент, полученный на данном этапе работы, можно охарактеризовать лишь как фазу средней гидрофильности, а для ее повышения необходимы дальнейшие исследования. Вероятно, ограничение в повышении степени гидрофилизации ковалентно привитых фаз связано со способом модифицирования ПС-ДВБ, приводящем к созданию якорных аминогрупп не только на поверхности, но и внутри частиц, в результате чего часть ионообменных центров оказывается в слабо гидратированном окружении [4].

Предположительно, изменение способа модифицирования ПС-ДВБ может благоприятно сказаться на гидрофильности фаз.

3.3. Влияние способа модифицирования матрицы на хроматографические свойства сорбентов

Следующим этапом работы стало изменение способа модифицирования ПС-ДВБ. Вместо ацилирования и восстановительного аминирования для создания неподвижных фаз впервые предложено использовать окисление остаточных двойных связей на поверхности ПС-ДВБ до эпокси-групп. Важно отметить, что в реакции эпоксидирования участвуют остаточные двойные связи, которые в структуре ПС-ДВБ расположены в основном на поверхности, а не в глубине частиц [18]. Следовательно, модифицирование затрагивает преимущественно поверхность матрицы, и впоследствии ионообменные центры не образуются внутри частиц сорбента и не попадают в гидрофобное окружение, что помогает избежать недостатков классических способов химического модифицирования [3]. Кроме того, повысить степень гидрофиллизации анионообменников можно с помощью гидролиза оставшихся после модифицирования эпоксидных групп [66,103]. Поэтому следующим шагом стала разработка методики эпоксидирования ПС-ДВБ для его последующей модифицирования. В данной работе для эпоксидирования использовали м-ХПБК, ввиду её доступности, небольшой продолжительности синтеза и его высокого выхода.

3.3.1. Выбор условий эпоксидирования и дальнейшего модифицирования матрицы³

В работе проведено исследование влияния условий реакции эпоксидирования ПС-ДВБ на её выход. Для оценки полноты протекания реакции предварительно синтезировали сорбент Е-ТМА. Его получали, добавляя к эпоксидированной матрице избыток ТМА, синтез проводили при 60°C в течение 1-18 ч на первом этапе работы, а для повышения выхода реакции на втором этапе — в течение 24 ч. Таким образом, ожидалось, что ТМА раскрывает все образовавшиеся эпокси-группы с образованием

³ При подготовке данной и последующих глав диссертации использованы следующие публикации, выполненные автором лично или в соавторстве, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

3. Gorbovskaia A.V., Talipova I.I., Timichev A.A., Uzhel A.S., Shpigun O.A. Novel stationary phases based on epoxidized polystyrene-divinylbenzene for three modes of liquid chromatography // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2023. Т. 89. №10. С. 19-24. ИФ (РИНЦ) – 0.491. 50%.

триметиламмониевых групп. С помощью измерения ёмкости сорбента Е-ТМА делали вывод о перспективности тех или иных условий.

Реакция эпоксидирования, осуществляемая при комнатной температуре, оказалась трудно воспроизводимой, но при проведении реакции при 37°C удалось повысить воспроизводимость и выход (табл. 2). В то же время повышение температуры до 50°C позволило сократить время эпоксидирования с 19 до 4 ч. Стоит отметить, что матрица, сорбент Е-ТМА на основе которой характеризовался ёмкостью 31 мкмоль/г, обладала недостаточным для закрепления функционального слоя количеством эпокси-групп. В результате, даже при закреплении сложного функционального слоя не хватало оксирановых колец для формирования достаточного количества точек закрепления и для гидролиза их части с целью повышения гидрофильности поверхности матрицы. Полученная фаза на основе такой матрицы характеризовалась низкой ёмкостью, эффективностью, степенью гидрофилизации и экранирования матрицы. Для синтеза сорбентов в данной работе использовали матрицы №2 и №7 с ёмкостью сорбентов Е-ТМА на их основе 72 и 58 мкмоль/г.

С точки зрения создания гидрофильных анионообменников есть два пути дальнейшего модифицирования полученных эпокси-групп на поверхности ПС-ДВБ (рис. 24). Первый заключается в их раскрытии амином (например, МА) с целью получения якорных аминогрупп для последующего закрепления функционального слоя. Второй — гидролиз эпокси-групп с образованием диольных групп, который позволит повысить степень экранирования и гидрофильность поверхности ПС-ДВБ. Перед тем как приступить к синтезу анионообменников со сложными полимерными слоями, необходимо оценить влияние количества якорных амино- и диольных групп на степень гидрофилизации сорбентов как в режиме ИХ, так и в ГИХ. Для этого синтезировали фазы с простым разветвлённым функциональным слоем.

Для получения всех фаз на основе эпоксидированного ПС-ДВБ (Е) проводили аминирование с помощью МА, гидролиз остаточных эпокси-колец в кислой среде при нагревании и дальнейшее алкилирование аминогрупп 1,4-БДДГЭ (ЕВ) (рис. 24), далее проводили аминирование продукта. Для получения простых сорбентов с разветвлённым слоем в качестве амина выбрали третичный амин с промежуточной гидрофильностью и небольшим количеством объемных заместителей — ДМЭА.

Согласно литературе [75], при использовании такого амина можно получить сорбент с высокой ёмкостью. Синтез проводили в течение 1 ч при 60°C. Количество амина соответствовало количеству 1,4-БДДГЭ, использованному при синтезе EB. Так получали фазу EB-DMEA x1 и сорбент с увеличенными на всех стадиях синтеза в 5 раз количествами реагентов — EB-DMEA x5. Для первого преобладающими якорными группами являются диольные, а для второго — аминогруппы. Для дополнительного экранирования матрицы в структуре этих сорбентов проводили полимеризацию глицидола при повышенном pH реакционной среды и получали фазы EB-DMEA x1 GI и EB-DMEA x5 GI. Стоит отметить, что глицидол может полимеризоваться как в функциональном слое, так и на поверхности матрицы с диольными группами.

Предсказуемо, повышение количества реагентов приводит к увеличению ионообменной ёмкости для обоих типов сорбентов EB-DMEA и EB-DMEA GI (табл. 31). Однако её рост не пропорционален увеличению количества реагентов, что может быть связано с меньшим количеством эпокси-групп по сравнению с использованным количеством МА. В то же время добавление глицидола и активация процесса его полимеризации приводили к снижению ионообменной ёмкости. Этот эффект, вероятно, обусловлен полимеризацией глицидола вокруг ионообменных центров и, следовательно, стерическими затруднениями.

Таблица 31. Ёмкости, коэффициенты селективности по выбранным парам, а также абсолютная эффективность по хлориду и относительные эффективности поляризуемых анионов ($N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$) для фаз с разветвлённым слоем. Элюент: 1 mM KOH, кроме EB-DMEA x5 – 8 mM KOH и EB-DMEA x5 GI – 5 mM KOH

Сорбент	EB-DMEA x1		EB-DMEA x1 GI		EB-DMEA x5		EB-DMEA x5 GI	
Ёмкость, мкмоль/г	26		14		61		48	
$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$	4,86		4,06		3,53		3,13	
$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$	1,52		1,38		1,49		1,37	
$\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$	2,41		1,77		1,72		1,52	
$\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{Cl}^-)$	8,17		6,09		5,67		4,61	
$\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{NO}_3^-)$	1,68		1,50		1,60		1,47	
$N(\text{Cl}^-)$, тт/м	31000		29500		41000		34500	
Анион	$N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$	As	$N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$	As	$N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$	As	$N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$	As
Br^-	0,9	1,2	0,4	1,7	0,6	1,5	0,7	1,2
NO_3^-	0,7	1,8	0,4	1,8	0,5	1,8	0,7	1,3
ClO_3^-	0,4	2,2	0,2	2,7	0,3	2,5	0,4	2,0

Оценку перспективности преобладания определенного типа якорных групп (амино- или диольных) для закрепления ионообменного функционального слоя или

полиглицидола в режиме ИХ проводили с помощью сравнения предложенных параметров для полученных фаз (табл. 31). Сорбент с большей ёмкостью и преобладающим числом якорных аминогрупп EB-DMEA x5 характеризовался меньшими значениями указанных параметров по сравнению с EB-DMEA x1. Значительное снижение $\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$ и $\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{Cl}^-)$ свидетельствует о лучшем экранировании матрицы и необходимости увеличения числа точек закрепления для функционального слоя. Колонка EB-DMEA x5 обладала наибольшей ёмкостью до 41000 т/м среди всех полученных в данном разделе. Тем не менее, низкие значения относительной эффективности поляризуемых анионов указывают на существенный вклад неионообменных взаимодействий (табл. 31). Проведение дополнительной стадии обработки глицидолом позволило повысить степень гидрофилизации и экранирования, однако влияние неионообменных взаимодействий оставалось значительным (табл. 31).

В целом полученные сорбенты можно охарактеризовать как фазы средней гидрофильности и степени экранирования. По гидрофильности они аналогичны фазам на основе ацилированного ПС-ДВБ с привитым модифицированным ПЭИ (раздел 3.2.1.1.), однако простой функциональный слой не обеспечил эффективного экранирования матрицы. В результате полученные в данном разделе фазы не подходили для определения сильнополяризуемых анионов в отличие от фаз с привитым ПЭИ [104], (раздел 3.2.1.) или полиэлектролитами [106].

В режиме ГИХ для полученных сорбентов провели тест Танака (табл. 32). Все фазы обладают низкими $k(\text{U})$ и $\alpha(\text{OH})$, что согласуется с их низкой гидрофильностью в режиме ИХ. Гидрофильность синтезированных смол была значительно ниже по сравнению со гиперразветвлённой фазой на основе ПС-ДВБ [43] и фазами, описанными в разделах 3.1.2. и 3.2.2. Параметры $k(\text{U})$ и $\alpha(\text{OH})$ возрастали с увеличением числа якорных аминогрупп для обоих типов фаз EB-DMEA и EB-DMEA Gl. Полимеризация глицидола не влияет на параметры теста Танака, за исключением $\alpha(\text{CX})$ и $\alpha(\text{AX})$. Их снижение на фазах EB-DMEA x1 Gl и EB-DMEA x5 Gl подтверждает повышение степени экранирования матрицы полиглицидолом и соотносится со снижением $\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$ в режиме ИХ. В основном, изменение $\alpha(\text{AX})$ коррелирует с изменением ёмкости в режиме ИХ, хотя вклад в удержание п-толуолсульфоната гидрофобных взаимодействий все ещё остается. Интересно

отметить, что на всех фазах, кроме EB-DMEA x5 GI положительно заряженный триметилфениламмония хлорид не отталкивается, а удерживается и, следовательно, $\alpha(CX)$ для них больше 0. Для остальных анионообменников в работе данный параметр всегда равен 0. Предположительно, хлорид триметилвиниламмония удерживается на данных фазах из-за появления на поверхности матрицы карбоксильных групп, до которых могут частично окисляться оксирановые кольца. Экранирование поверхности матрицы полиглицидолом (фаза EB-DMEA x5 GI) помогает устранить влияние отрицательно заряженных карбоксильных групп.

Таблица 32. Величины коэффициентов селективности теста Танака для сорбентов с разветвлённым слоем. Условия см. гл. 2.7.

Сорбент	EB-DMEA x1	EB-DMEA x1 GI	EB-DMEA x5	EB-DMEA x5 GI
k(U)	0,54	0,52	0,73	0,72
$\alpha(OH)$	1,49	1,48	1,74	1,77
$\alpha(CH_2)$	1,02	1,03	1,09	1,09
$\alpha(V/A)$	1,16	1,17	1,24	1,26
$\alpha(CX)$	1,03	0,36	0,68	0
$\alpha(AX)$	39,0	25,8	119,8	87,6
$\alpha(Tb/Tr)$	0,60	0,64	0,34	0,38

Фаза EB-DMEA x5 продемонстрировала значительно меньшее удерживание алкилбензолов в режиме ОФ-ВЭЖХ по сравнению с наиболее гидрофильными сорбентами на основе ацилированного ПС-ДВБ. При сравнении факторов удерживания алкилбензолов на наиболее гидрофильном сорбенте с привитыми полиэлектролитами ВРЕI-n(B-DMA) и на фазе EB-DMEA x5 можно отметить значительное снижение для второго (рис. 51а). Селективность по отношению к алкилбензолам схожая на обеих фазах (рис. 51б). Также алкилбензолы удерживаются на фазе EB-DMEA x5 значительно меньше, чем на сорбенте с ковалентно привитым гиперразветвленным слоем, описанным в работе [43]. Таким образом, даже относительно простой функциональный слой на поверхности эпоксицированного ПС-ДВБ позволяет существенно снизить удерживание гидрофобных аналитов по сравнению с сорбентами на основе ацилированной матрицы со сложными слоями. Фаза EB-DMEA x5 позволила разделить смесь 7 алкилбензолов за 13 мин с использованием в качестве подвижной фазы вода: ацетонитрил в соотношении 30:70 по объему с эффективностью до 17000 тт/м (рис. 51в, табл. 33). Гиперразветвлённая фаза обеспечивала разделение тех же аналитов за 35 мин (рис. 16) [43].

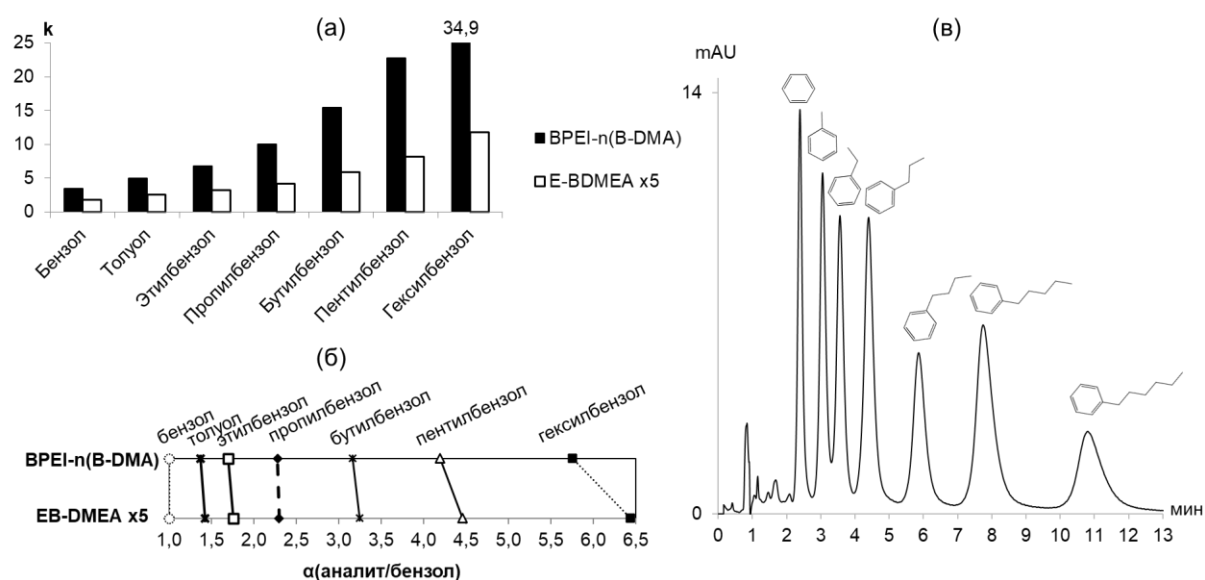


Рис. 51. Факторы удерживания алкилбензолов (а), их коэффициенты селективности α (аналит/бензол) (б) для фаз BPEI-n(B-DMA) и E-BDMEA x5 и хроматограммы разделения смеси 7 алкилбензолов на фазе E-BDMEA x5 (в). Элюент: CH₃CN – H₂O (70:30. об.%). Другие условия см. гл. 2.7.

Таблица 33. Эффективность алкилбензолов и коэффициенты асимметрии их пиков для фазы E-BDMEA x5. Условия см. рис. 51в

Аналит	N, тт/м	As
Бензол	17000	1,2
Толуол	17000	1,1
Этилбензол	16500	1,2
Пропилбензол	14000	1,1
Бутилбензол	14000	1,2
Пентилбензол	12500	1,3
Гексилбензол	12000	1,3

Таким образом, выявлено, что для увеличения воспроизводимости реакции эпексидирования ПС-ДВБ необходимо термостатирование, а для повышения её выхода и уменьшения её продолжительности — увеличение температуры синтеза. С точки зрения гидрофилизации сорбента как в режиме ГИХ, так и в режиме ИХ, перспективно увеличение числа якорных аминогрупп, а не диольных, а за счёт полимеризации глицидола возможно дополнительное повышение степени экранирования фаз.

3.3.2. Сорбенты с привитыми ПЭИ и полиэлектролитами⁴

⁴ При подготовке данной и последующих глав диссертации использованы следующие публикации, выполненные автором лично или в соавторстве, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

4. Горбовская А.В., Тимичев А.А., Ужель А.С., Чернобровкина А.В., Шпигун О.А. Новые высокогидрофильные сорбенты с привитыми полимерными слоями для жидкостной хроматографии // Сорбцион. и хроматогр. процессы. 2023. Т. 23. №4. С. 558-569. ИФ (РИНЦ) – 0.513. 50%.

Наиболее гидрофильным сорбентом с привитыми полиэлектролитами из полученных в разделе 3.1. является фаза ВРЕI-n(B-DMA). Поэтому подход к одновременной прививке ПЭИ и полиэлектролитных цепей интересно перенести на более гидрофильную матрицу. Кроме того, для создания полиэлектролитов предлагается использовать более гидрофильный МЭА, а для увеличения степени экранирования дополнительно полимеризовать глицидол в структуре сорбента при повышенном рН реакционной среды. В результате получено два анионообменника: EBPEI-n(B-MEA) и EBPEI-n(B-MEA)-GI.

В режиме ИХ фаза EBPEI-n(B-MEA) характеризовалась довольно высокой гидрофильностью и степенью экранирования, о чём говорят одни из самых низких параметров, полученных в рамках данной работы (табл. 34) и по сравнению со многими фазами, ранее описанными в литературе [66,76,104]. За счёт полимеризации глицидола в функциональном слое их удалось дополнительно понизить, что привело к изменению порядка элюирования для пары $\text{VrO}_3^-/\text{Cl}^-$ (рис. 52а). Даже несмотря на повышение элюирующей способности гидроксид-иона при повышении гидрофильности фаза EBPEI-n(B-MEA)-GI характеризовалась большим $k'(\text{Cl}^-)$, что свидетельствует о росте ёмкости. Вероятно, это связано с расходом части глицидола на кватернизацию аминогрупп ПЭИ, что приводит к увеличению числа доступных ионообменных центров. Данное предположение дополнительно подтверждается значительным увеличением удерживания сульфат-иона (табл. 34).

Однако закрепление полиэлектролитов на поверхности ПЭИ ограничивает эффективность неподвижных фаз. Оба сорбента демонстрировали невысокую абсолютную эффективность по хлориду, а фаза EBPEI-n(B-MEA) также характеризовалась низкой эффективностью относительно хлорида по поляризуемым анионам и значительным размыванием их пиков (табл. 34). Низкая абсолютная эффективность может объясняться замедленным массопереносом в объемном полимерном функциональном слое полученных сорбентов. Тот факт, что полимеризация глицидола позволила повысить относительную эффективность поляризуемых анионов, свидетельствует о неравномерном закреплении полиамина и необходимости дополнительного экранирования матрицы. Таким образом, ковалентного закрепления гидрофильных полиэлектролитов на поверхности ПЭИ оказалось недостаточно для достижения высокой степени экранирования. Для

сильнополяризуемых анионов наблюдалось снижение факторов удерживания на сорбенте EBPEI-n(B-MEA)-GI по сравнению с фазой EBPEI-n(B-MEA), причём наибольшее изменение отмечено для ClO_4^- (снижение на 36%) (табл. 35). Это подтверждает сохранение влияния матрицы на удерживание аналитов, склонных к неионообменным взаимодействиям, при её экранировании ПЭИ и полиэлектролитами.

Таблица 34. Факторы удерживания хлорида, коэффициенты селективности по выбранным парам, а также абсолютная эффективность по хлориду и относительные эффективности поляризуемых анионов ($N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$) для фаз с EBPEI-n(B-MEA) и EBPEI-n(B-MEA)-GI. Элюент: EBPEI-n(B-MEA) — 8 мМ КОН, EBPEI-n(B-MEA)-GI — 4 мМ КОН

Анионообменник	EBPEI-n(B-MEA)		EBPEI-n(B-MEA)-GI	
$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$	2,73		1,98	
$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$	1,31		1,17	
$\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$	1,12		0,98	
$\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{Cl}^-)$	3,57		2,07	
$\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{NO}_3^-)$	1,27		1,05	
$k'(\text{Cl}^-)*$	1,3		1,7	
$k'(\text{SO}_4^{2-})*$	4,1		8,2	
$N(\text{Cl}^-)$, тт/м	26500		20000	
Анион	$N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$	As	$N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$	As
Br^-	0,5	1,2	1,0	0,8
NO_3^-	0,3	1,6	0,8	1,0
ClO_3^-	0,2	2,3	0,5	1,2

* элюент: 8 мМ КОН

Таблица 35. Факторы удерживания, эффективность и асимметрия пиков сильнополяризуемых анионов на анионообменниках E-BPEI-n(B-MEA) и E-BPEI-n(B-MEA)-GI. Элюент: 30 мМ КОН. Скорость потока: 1,0 мл/мин

Сорбент	E-BPEI-n(B-MEA)			E-BPEI-n(B-MEA)-GI		
	$N(\text{Cl}^-)$, тт/м	17500			19500	
Анион	k'	$N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$	As	k'	$N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$	As
BF_4^-	3,1	0,11	2,1	2,4	0,13	1,7
I^-	3,9	0,14	2,3	3,1	0,26	1,4
ClO_4^-	13,5	0,09	2,5	9,9	0,10	2,2
SCN^-	11,2	0,09	2,5	8,9	0,18	1,8

Ещё одним подтверждением сравнительно высокой гидрофильности и степени экранирования полученных фаз в режиме ИХ является сниженное удерживание галогенуксусных кислот по сравнению фазами, описанными выше. Так на сорбенте средней гидрофильности с привитым ПЭИ и полиглицидолом BPEI-GI 4 (раздел 3.2.1.2.) монохлорацетат элюировался одновременно с бромидом, а монобромацетат

— после хлората (рис. 48а). В то время как на фазах, синтезированных в данном разделе, указанные галогенуксусные кислоты удалось элюировать до бромида и нитрата, соответственно (рис. 52а). Ожидается, повышенная гидрофильность полученных сорбентов привела к низкой селективности по отношению к анионам органических кислот (рис. 52б, 52в). При переходе от сорбента Е-ВРЕІ-п(В-МЕА) к Е-ВРЕІ-п(В-МЕА)-GІ снижалось удерживание всех анионов исследуемых одноосновных органических кислот по отношению к фториду. В целом, значительных изменений не было и в селективности оксоанионов, за исключением изменения порядка элюирования пары тиосульфат/молибдат (рис. 52г). Несмотря на высокую гидрофильность данных фаз, их невысокая эффективность и селективность определили и их низкую разделяющую способность в режиме ІХ.

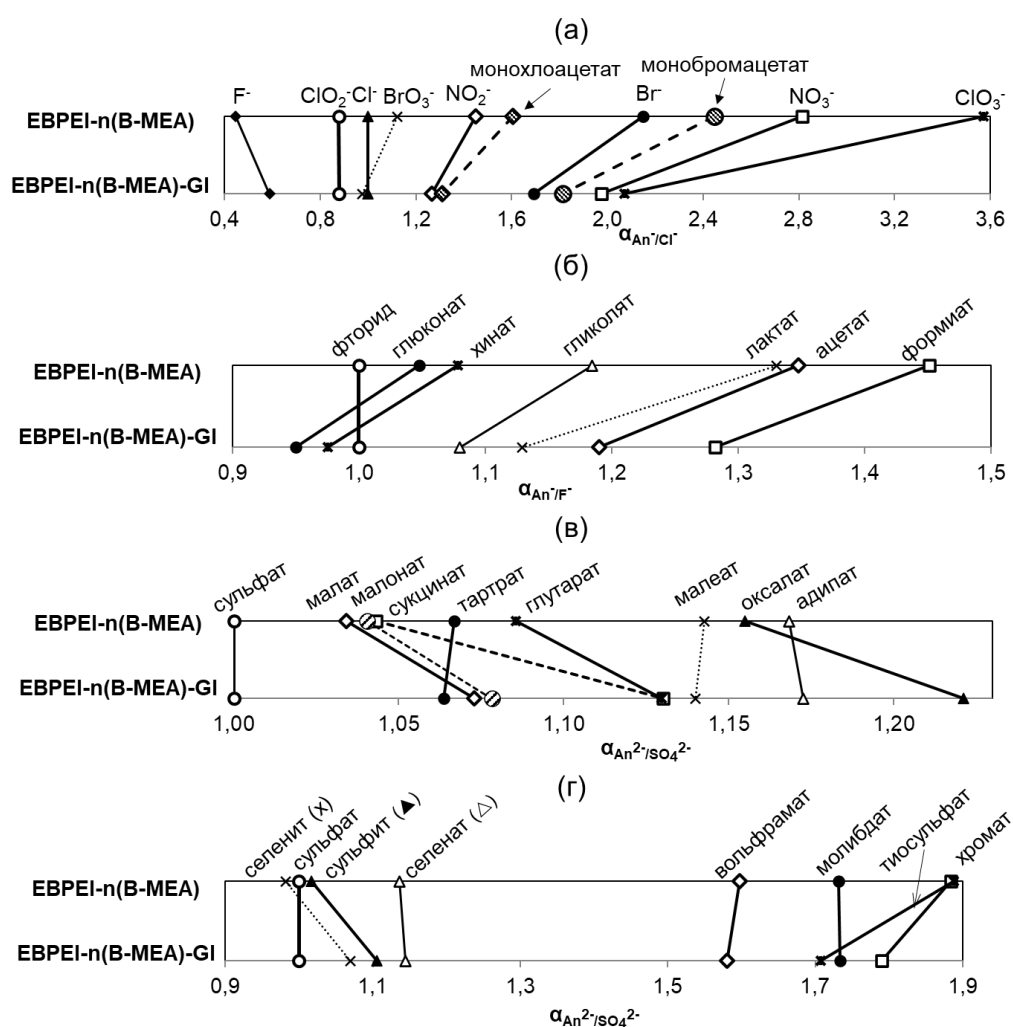


Рис. 52. Селективность по отношению к стандартным анионам, оксогалогенидам и галогенуксусным кислотам (а), анионам одно- (б) и двухосновных (в) органических кислот и оксоанионам (г) сорбентов ЕВРЕІ-п(В-МЕА) и ЕВРЕІ-п(В-МЕА)-GІ. Элюент: (а): см. табл. 34, (б): ЕВРЕІ-п(В-МЕА) — 2 мМ КОН, ЕВРЕІ-п(В-МЕА)-GІ — 4 мМ КОН; (в), (г): ЕВРЕІ-п(В-МЕА) — 8 мМ КОН, ЕВРЕІ-п(В-МЕА)-GІ — 10 мМ КОН.

Для обеих фаз в режиме ГИХ провели тест Танака (табл. 36). Фаза E-BPEI-n(B-МЕА) характеризовалась наибольшими гидроксильной $\alpha(\text{OH})$ и метиленовой $\alpha(\text{CH}_2)$ селективностями из всех фаз на основе ПС-ДВБ, описанных в разделах 3.1.2. и 3.2.2. и литературе [41,43,44]. По гидрофильности в режиме ГИХ данная фаза уступала только сорбенту с гиперразветвленным слоем [43]. В то же время полимеризация глицидола привела к уменьшению указанных параметров, а также к существенному снижению анионообменной селективности $\alpha(\text{AX})$, несмотря на бóльшую ёмкость в режиме ИХ. Это подтверждает повышение степени экранирования матрицы за счёт закрепления фрагментов полиглицидола.

Таблица 36. Величины коэффициентов селективности теста Танака для сорбентов E-BPEI-n(B-МЕА) и E-BPEI-n(B-МЕА)-GI. Условия см. гл. 2.7.

Сорбент	E-BPEI-n(B-МЕА)	E-BPEI-n(B-МЕА)-GI
$k(\text{U})$	3,18	2,24
$\alpha(\text{OH})$	2,34	2,01
$\alpha(\text{CH}_2)$	1,41	1,35
$\alpha(\text{V/A})$	1,54	1,48
$\alpha(\text{CX})$	0	0
$\alpha(\text{AX})$	86,9	41,4
$\alpha(\text{Tb/Tr})$	0,22	0,35

В режиме ГИХ подробно исследовали удерживание аналитов разных классов на наиболее гидрофильной фазе E-BPEI-n(B-МЕА) и провели сравнение её характеристик с таковыми для ранее полученного сорбента с привитыми ПЭИ и полиэлектролитами с менее гидрофильным ДМА — BPEI-n(B-DMA). По эффективности и симметрии пиков азотистых оснований, нуклеозидов и витаминов сравниваемые колонки не различались значительно, для пиков многих аналитов можно отметить размывание переднего фронта (табл. 37). Форма пиков сахаров лучше на фазе E-BPEI-n(B-МЕА), которая характеризовалась в 2 раза большей эффективностью сахарозы, но также и меньшей эффективностью мальтозы, в то время как по остальным сахарам различия менее значительны. Стоит отметить, что факторы удерживания коррелировали с $k(\text{U})$ выбранных фаз не для всех изученных аналитов (Приложение 10), например, для фазы BPEI-n(B-DMA) факторы больше для всех сахаров, витамина В₆ и некоторых азотистых оснований и нуклеозидов. Однако, при сравнении с остальными фазами, описанными в разделах 3.1. и 3.2. и обладавшими значительно меньшими $k(\text{U})$, E-BPEI-n(B-МЕА) характеризовалась большими факторами удерживания.

Также сравнили характеристики сорбента ЕВРЕИ-п(В-МЕА) с таковыми для фазы на основе аминированного ПС-ДВБ с привитым гиперразветвленным слоем [43]. Бóльшие факторы удерживания на колонке с ЕВРЕИ-п(В-МЕА) по сравнению с гиперразветвлённой фазой наблюдали для всех сахаров, кроме рибозы, а также аскорбиновой кислоты и рибофлавина [43]. Они свидетельствуют о большей гидрофилизации и лучшем экранировании гидрофобной матрицы по новой предложенной схеме. Как следствие, новая колонка характеризовалась более высокой эффективностью в режиме ГИХ по сравнению с гиперразветвлённой фазой (табл. 37). Негативное влияние полимерного слоя, связанное с замедленным массопереносом, в этом режиме проявляется меньше. Это может быть связано с меньшей толщиной части функционального слоя, задействованного в режиме ГИХ по сравнению с режимом ИХ.

Для фазы на основе эпоксицированной матрицы наблюдалось небольшое снижение разделяющей способности по отношению к азотистым основаниям и нуклеозидам по сравнению с ВРЕИ-п(В-DMA). Оно связано с уменьшением селективности по парам 2'-дезоксисуридин/тимин, видарабин/цитозин и гуанин/цитидин (рис. 53а). В результате фаза ЕВРЕИ-п(В-МЕА) позволяет разделить 9 аналитов данного класса за 18 мин (рис. 53б), а разрешение пары гуанин/цитидин значительно снижено, хотя на фазе ВРЕИ-п(В-DMA) их удавалось разделить до базовой линии.

Таблица 37. Эффективность (N, тт/м) и асимметрия пиков (As) для азотистых оснований и нуклеозидов, водорастворимых витаминов и сахаров, полученные для колонки ЕВРЕИ-п(В-МЕА). Условия см. гл. 2.7.

Азотистые основания и нуклеозиды			Витамины			Сахара		
Аналит	N, тт/м	As	Аналит	N, тт/м	As	Аналит	N, тт/м	As
тимин	12000	0,9	Никотинамид	8500	0,9	рибоза	11000	0,8
урацил	16500	0,8	В ₆	13500	0,8	ксилоза	3500	1,0
тимидин	12000	0,9	В ₂	9500	0,8	фруктоза	12000	0,8
2'-дезоксисуридин	11000	0,8	В ₁₂	5000	1,1	глюкоза	3500	0,9
уридин	12000	0,8	С	16500	0,8	сахароза	20000	1,0
цитозин	17500	0,8	Никотиновая кислота	20000	0,7	лактоза	8000	1,0
аденин	15500	0,8	—	—	—	мальтоза	8000	1,0
аденозин	12000	0,8	—	—	—	—	—	—
ксантин	13500	0,8	—	—	—	—	—	—
цитидин	14500	0,8	—	—	—	—	—	—
гуанин	16500	0,8	—	—	—	—	—	—
гуанозин	15000	0,8	—	—	—	—	—	—

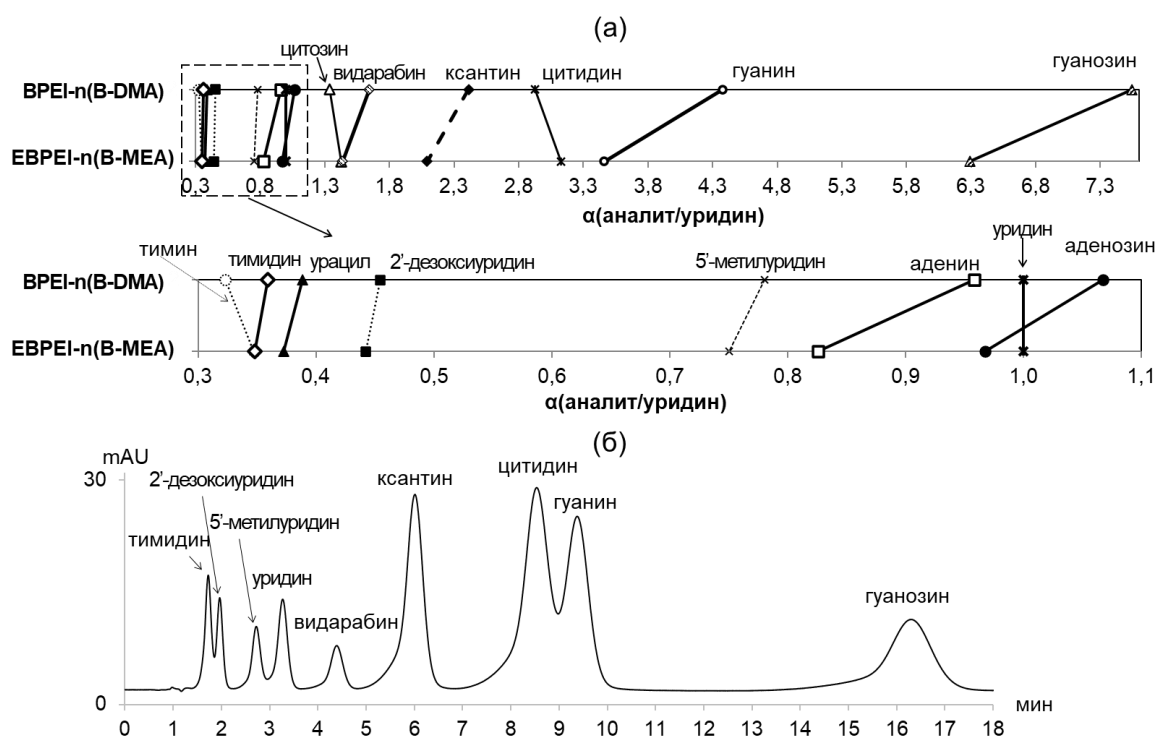


Рис. 53. Коэффициенты селективности α (аналит/уридин) для азотистых оснований и нуклеозидов (б) на фазах EBPEI-n(B-MEA) и ВРЕI-n(B-DMA), а также хроматограмма разделения их смеси на сорбенте EBPEI-n(B-MEA) (б). Условия см. гл. 2.7.

Изменения селективности вплоть до порядка элюирования также наблюдали для витаминов (рис. 54а), а именно для пары никотиновая/аскорбиновая кислота. В результате фаза EBPEI-n(B-MEA), хотя и позволила разделить смесь 6 витаминов за 24 мин (рис. 54б), однако с меньшим разрешением пары никотиновая/аскорбиновая кислота, чем все остальные сорбенты в работе. Повышение удерживания более гидрофильной аскорбиновой кислоты относительно никотиновой (рис. 54) является ещё одним свидетельством наилучшей гидрофилизации, обеспеченной сочетанием подходов к экранированию эпоксицированного ПС-ДВБ с помощью ПЭИ и гидрофильных полиэлектролитов.

На фазе EBPEI-n(B-MEA) также наблюдался рост относительного удерживания лактозы и снижение удерживания сахарозы и мальтозы, что привело к изменению порядка элюирования пары мальтоза/лактоза и увеличению селективности пары лактоза/сахароза (рис. 55а). Благодаря высокой α (ОН), сорбент EBPEI-n(B-MEA) обеспечивал неполное разделение пары фруктоза/арабиноза, а также неполное разделение пары манноза/глюкоза. Это было невозможно на сорбентах, описанных в разделах 3.1. и 3.2. и работе [43]. В результате он позволил разделить смесь 8 сахаров за 11 мин при повышении температуры колонки до 50°C с использованием элюента с 20% водной фазы (рис. 55б).

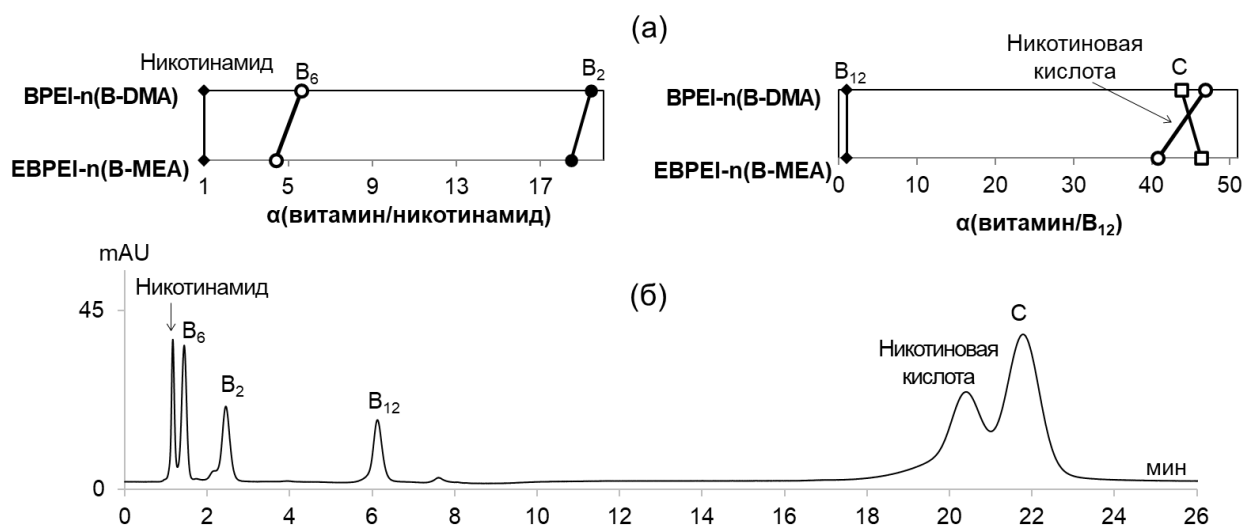


Рис. 54. Коэффициенты селективности $\alpha(\text{витамин/никотинамид})$ для слабо- и $\alpha(\text{витамин/B}_{12})$ для сильноудерживаемых водорастворимых витаминов (а) на фазах EVPEI-n(B-MEA) и VPEI-n(B-DMA), а также хроматограмма разделения их смеси на сорбенте EVPEI-n(B-MEA) (б). (а): Условия см. гл. 2.7.; (б): Элюент: CH₃CN – 100 мМ АФБ, pH 3,0; градиентное элюирование: 0-3 мин — 15% буферного раствора, 3-4,5 мин — 15-20% буферного раствора, 5,5-7 мин — 20-35% буферного раствора. Другие условия см. гл. 2.7.

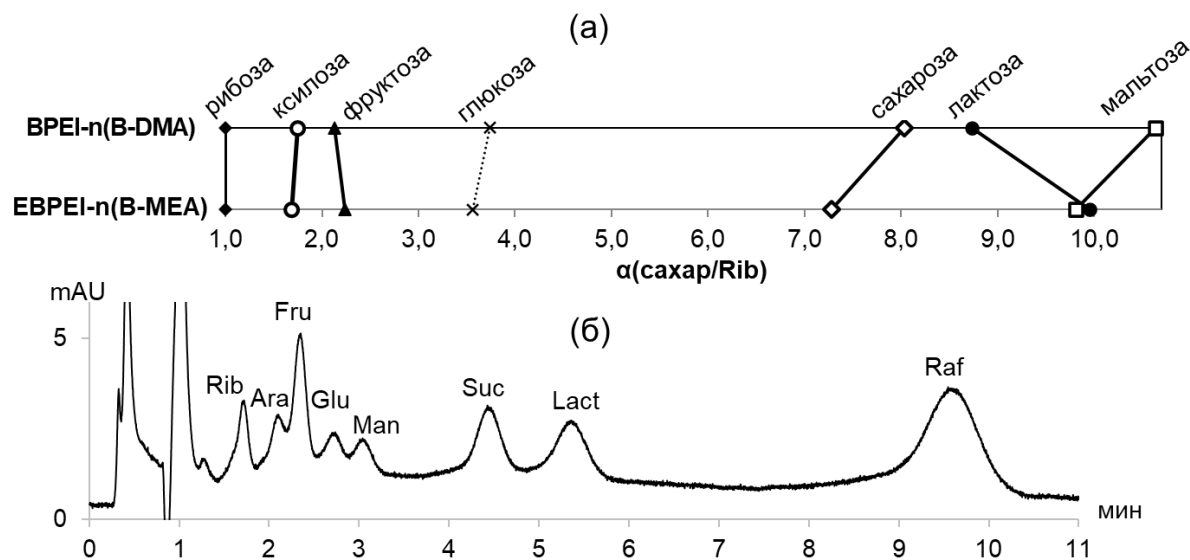


Рис. 55. Коэффициенты селективности $\alpha(\text{сахаров/Rib})$ (а) на фазах EVPEI-n(B-MEA) и VPEI-n(B-DMA), а также хроматограмма разделения их смеси на сорбенте EVPEI-n(B-MEA) (б). (а): Условия см. гл. 2.7.; (б): Элюент: CH₃CN – H₂O: (80:20, об. %). Температура колонки: 50°C. Другие условия см. гл. 2.7.

Таким образом, сочетание предложенного способа модифицирования ПС-ДВБ и гидрофилизация его поверхности за счёт прививки полиамина и гидрофильных полиэлектролитов позволяет получить высокогидрофильные сорбенты для работы в режимах ИХ с подавлением и ГИХ. В режиме ИХ полученные фазы характеризуются сниженным относительным удерживанием галогенуксусных кислот и оксогалогенидов, и по сравнению с описанными выше наиболее гидрофильными

фазами на них наблюдается другой порядок их элюирования относительно стандартных анионов. В режиме ГИХ предложенный способ позволяет повысить разделяющую способность сорбента по отношению к сахарам и факторы удерживания некоторых аналитов. Тем не менее, прививка ПЭИ и полиэлектролитов не позволяет достичь достаточно высокой степени экранирования, о чём свидетельствуют несимметричные и неэффективные пики поляризуемых анионов. Однако, за счёт полимеризации глицидола возможно повысить степень экранирования матрицы. Кроме того, объёмный полимерный слой не позволяет добиться высокой эффективности в режиме ИХ. Предположительно, путем замены полиэлектролитов на глицидол и полиглицидол можно будет повысить как эффективность за счёт уменьшения толщины слоя, так и степень экранирования матрицы.

3.3.3. Сорбенты с привитым ПЭИ, кватернизованным глицидолом

Подход к получению сорбентов за счёт прививки ПЭИ с последующей кватернизацией его аминогрупп глицидолом, в том числе при повышении pH реакционной среды, показал себя наиболее перспективным для получения гидрофильных анионообменников. Изначально для получения фазы данного типа на основе эпоксицирированного ПС-ДВБ, обработанного МА, была предпринята попытка повторить синтез фазы ВРЕИ-Г1 х1. Однако, полученный анионообменник обладал крайне низкой ёмкостью и при использовании в качестве элюента 4 мМ КОН не позволял разделить даже 5 стандартных неорганических анионов. Для повышения ёмкости сорбента увеличили количество глицидола и температуру синтеза до 80°C, а для увеличения степени экранирования дополнительно полимеризовали глицидол в щелочной среде. В результате получены сорбенты ЕВРЕИ-Г1 1 и ЕВРЕИ-Г1 2, условия синтеза которых указаны в табл. 5.

Для сорбента ЕВРЕИ-Г1 2, синтезированного с добавлением КОН, ёмкость оказалась примерно в 2 раза меньше, несмотря на большее количество добавленного глицидола — 69 мкмоль/г, в то время как для ЕВРЕИ-Г1 1 — 120 мкмоль/г. Это согласуется с результатами, полученными в разделе 3.2.1.2., а также подтверждается значениями $k(\text{Cl}^-)$, полученными при использовании в качестве элюента 8 мМ КОН (табл. 38). Такая разница в ёмкости обусловила различный выбор элюентов для тестирования сорбентов — для стандартных неорганических анионов и

оксогалогенидов использовали 2 мМ КОН для фазы EBPEI-GI 2 и 10 мМ КОН для сорбента EBPEI-GI 1.

Таблица 38. Факторы удерживания хлорида и коэффициенты селективности по парам, отражающим степень гидрофилизации функционального слоя для полученных фаз. Элюент: EBPEI-GI 1 – 10 мМ КОН, EBPEI-GI 2 – 2 мМ КОН

Сорбент	$k'(Cl^-)$ *	$\alpha(NO_3^-/Cl^-)$	$\alpha(NO_3^-/Br^-)$	$\alpha(BrO_3^-/Cl^-)$	$\alpha(ClO_3^-/Cl^-)$	$\alpha(ClO_3^-/NO_3^-)$
EBPEI-GI 1	1,3	2,40	1,07	0,85	2,02	0,84
EBPEI-GI 2	0,6	2,34	1,07	0,78	1,84	0,79

*элюент: 8 мМ КОН

Как и ожидалось на основании результатов, представленных в разделе 3.2.1.2., степень гидрофилизации и экранирования матрицы сорбента, полученного с добавлением КОН, в режиме ИХ несколько выше, чем у фазы EBPEI-GI 1, о чем свидетельствовало снижение $\alpha(BrO_3^-/Cl^-)$, $\alpha(ClO_3^-/Cl^-)$ и $\alpha(ClO_3^-/NO_3^-)$ (табл. 38). При сравнении фаз, полученных на эпоксицирированной матрице, с наиболее гидрофильным сорбентом с аналогичным функциональным слоем BPEI-GI 4 отмечено существенное снижение всех предложенных параметров, что говорит о значительном повышении степени гидрофилизации фаз. Важно подчеркнуть, что приведенные параметры являются самыми низкими среди всех фаз с привитым ПЭИ, кватернизованным глицидолом. И хотя для фазы EBPEI-n(B-MEA)-GI с привитыми ПЭИ и полиэлектролитами на основе эпоксицирированного ПС-ДВБ удалось достичь меньшей $\alpha(NO_3^-/Cl^-)$, настолько высокой степени экранирования достигнуто не было. Особенно стоит отметить изменение порядка элюирования оксогалогенидов относительно стандартных анионов при замене способа модифицирования матрицы. При осуществлении ацилирования и восстановительного аминирования вне зависимости от структуры функционального слоя сорбентов бромат всегда удерживался дольше хлорида, а хлорат дольше нитрата [43,69,98,104]. В результате, такие сорбенты невозможно использовать при определении следовых количеств оксогалогенидов. В то же время за счет закрепления гидрофилизованного с помощью глицидола ПЭИ на поверхности эпоксицирированного ПС-ДВБ впервые удалось элюировать бромат до хлорида, а хлорат до бромида на ковалентно привитых фазах на основе ПС-ДВБ (рис. 56). Это свидетельствует о лучшем экранировании матрицы и гидрофилизации её поверхности за счет диольных функциональных групп и более гидрофильных якорных аминогрупп, расположенных на поверхности частиц. Более того, сорбенты

ЕВРЕИ-GI 1 и ЕВРЕИ-GI 2 не позволяют разделять пару нитрат/бромид, хотя на подавляющем большинстве ковалентно привитых анионообменников разделение этой пары до базовой линии легко реализуется [16,69,76,98,100–102,104,105]. Это говорит о значительном снижении влияния неионообменных взаимодействий за счёт изменения способа модифицирования ароматической матрицы с традиционного на предлагаемый нами. Однако, поскольку и бромид, и нитрат являются стандартными анионами, то современные анионообменники должны позволять их разделять до базовой линии, поэтому необходима дальнейшая оптимизация структуры функционального слоя на поверхности эпоксицированной матрицы, например, за счёт повышения степени его сшивки.

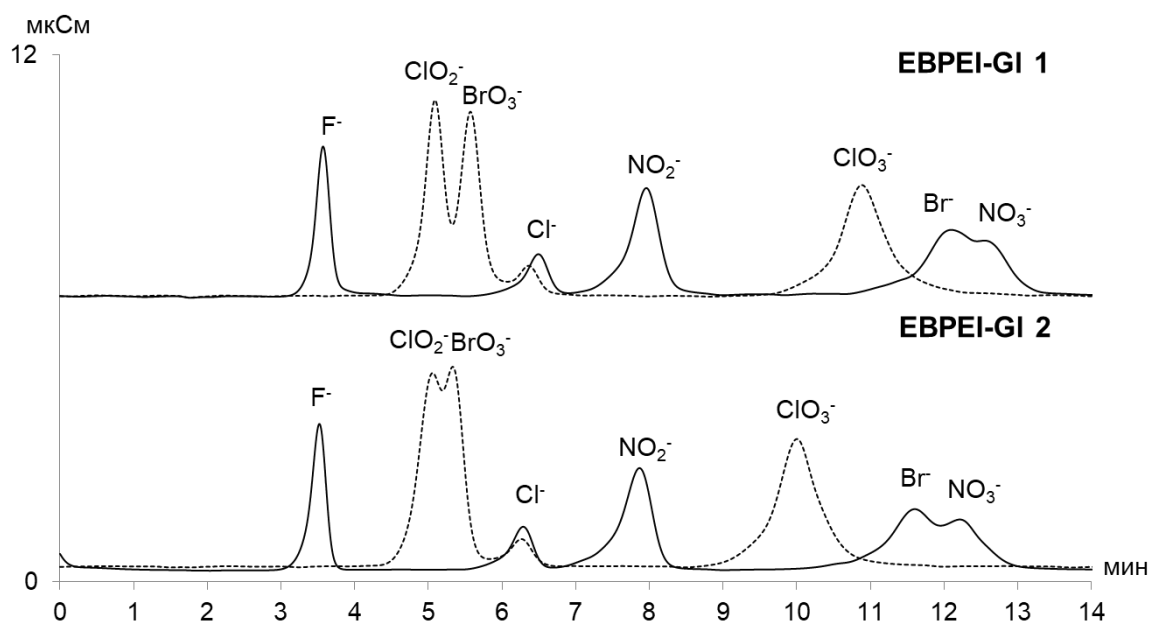


Рис. 56. Хроматограммы стандартных однозарядных анионов и оксогоалогенидов на сорбентах на основе эпоксицированной матрицы. Элюент: ЕВРЕИ-GI 1 – 4 мМ КОН, ЕВРЕИ-GI 2 – 2 мМ КОН. Скорость потока: 1 мл/мин.

Сорбенты на основе эпоксицированного ПС-ДВБ по эффективности и асимметрии пиков сопоставимы с сорбентом ВРЕИ-GI 4 (табл. 39), однако важно отметить высокую симметрию пика хлорат-иона, которой не обеспечивал ни один полученный ранее в работе сорбент. Сравнение сорбентов ВРЕИ-GI 4 и ЕВРЕИ-GI 2 показало, что переход к эпоксицированной матрице также не привёл к возрастанию эффективности по сильнополяризуемым анионам, однако позволил добиться значительного повышения симметрии их пиков. Значения A_s достигали 1,3 для иодида, 1,4 для роданида и 1,6 для перхлората на фазе ЕВРЕИ-GI 2 и являются минимальными из полученных для сорбентов на основе ПС-ДВБ с привитым ПЭИ,

кватернизированным глицидолом. Это еще одно свидетельство в пользу перспективности предложенных подходов к гидрофилизации сорбентов.

Таблица 39. Изменение эффективностей относительно хлорида и коэффициенты асимметрии пиков для полученных фаз. Элюент: для хлорида, бромид, нитрата и хлората указан в табл. 38; 30 мМ КОН для сильнополяризуемых анионов

Сорбент	N(Cl ⁻), тт/м	Анион	Br ⁻	NO ₃ ⁻	ClO ₃ ⁻	I ⁻	SCN ⁻	ClO ₄ ⁻
ЕВРЕИ-GI 1	18500	N(An ⁻)/N(Cl ⁻)	1,08	1,03	0,68	0,46	0,38	0,24
		As	0,9	0,9	1,0	1,4	1,6	1,6
ЕВРЕИ-GI 2	20000	N(An ⁻)/N(Cl ⁻)	0,95	0,90	0,73	0,45	0,35	0,25
		As	0,8	0,9	1,0	1,3	1,4	1,6

Кроме того, изучение механизма удерживания сильнополяризуемых анионов на сорбенте ЕВРЕИ-GI 1 показало, что зависимости $\lg k'$ от $\lg C$ являются линейными, и для всех рассмотренных анионов угловые коэффициенты лежат в интервале $1 \pm 0,1$ (табл. 40). Это указывает на преимущественно ионообменный механизм их удерживания. Важно отметить, что для сорбента ВРЕИ-GI 4 на аминированной матрице преобладание ионообменного механизма удерживания удалось подтвердить только для тетрафторбората. Таким образом, замена способа модифицирования матрицы позволяет гидрофилизировать и экранировать ее поверхность и обеспечить преимущественно ионообменный механизм удерживания даже для сильнополяризуемых анионов.

Таблица 40. Коэффициенты зависимостей $\lg k'$ от $\lg C$ для сильнополяризуемых анионов на сорбенте ЕВРЕИ-GI 1. Элюент: КОН с концентрациями от 15 до 60 мМ

BF ₄ ⁻		I ⁻		ClO ₄ ⁻		SCN ⁻	
tg α	R ²	tg α	R ²	tg α	R ²	tg α	R ²
1,09	0,992	1,07	0,999	1,01	0,999	1,01	0,999

За счёт повышения степени гидрофилизации сорбента и экранирования матрицы удаётся значительно снизить удерживание галогенуксусных кислот (рис. 57а). Анионообменник ЕВРЕИ-GI 2, упакованный в колонку 100 × 4 мм, позволил разделять моногалогенуксусные кислоты за 8 мин с использованием 2 мМ КОН в качестве элюента, дигалогенуксусные — за 8 мин с использованием 10 мМ КОН, а трихлоруксусная кислота удерживалась 10 мин при элюировании 30 мМ КОН. Переход к эпоксицированной матрице привёл к значительному снижению селективности по отношению к моно- и дигалогенацетатам: изменился порядок их элюирования относительно неорганических анионов. Например, если на сорбенте ВРЕИ-GI 4 время удерживания монохлорацетата сопоставимо с временем

удерживания бромидов, то на сорбенте ВРЕИ-Г1 2 он элюировался до хлорида и совместно с хлоритом. Такое снижение относительного удерживания галогенуксусных кислот является подтверждением перспективности эпоксицирования матрицы с точки зрения повышения степени гидрофилизации фаз на основе ПС-ДВБ.

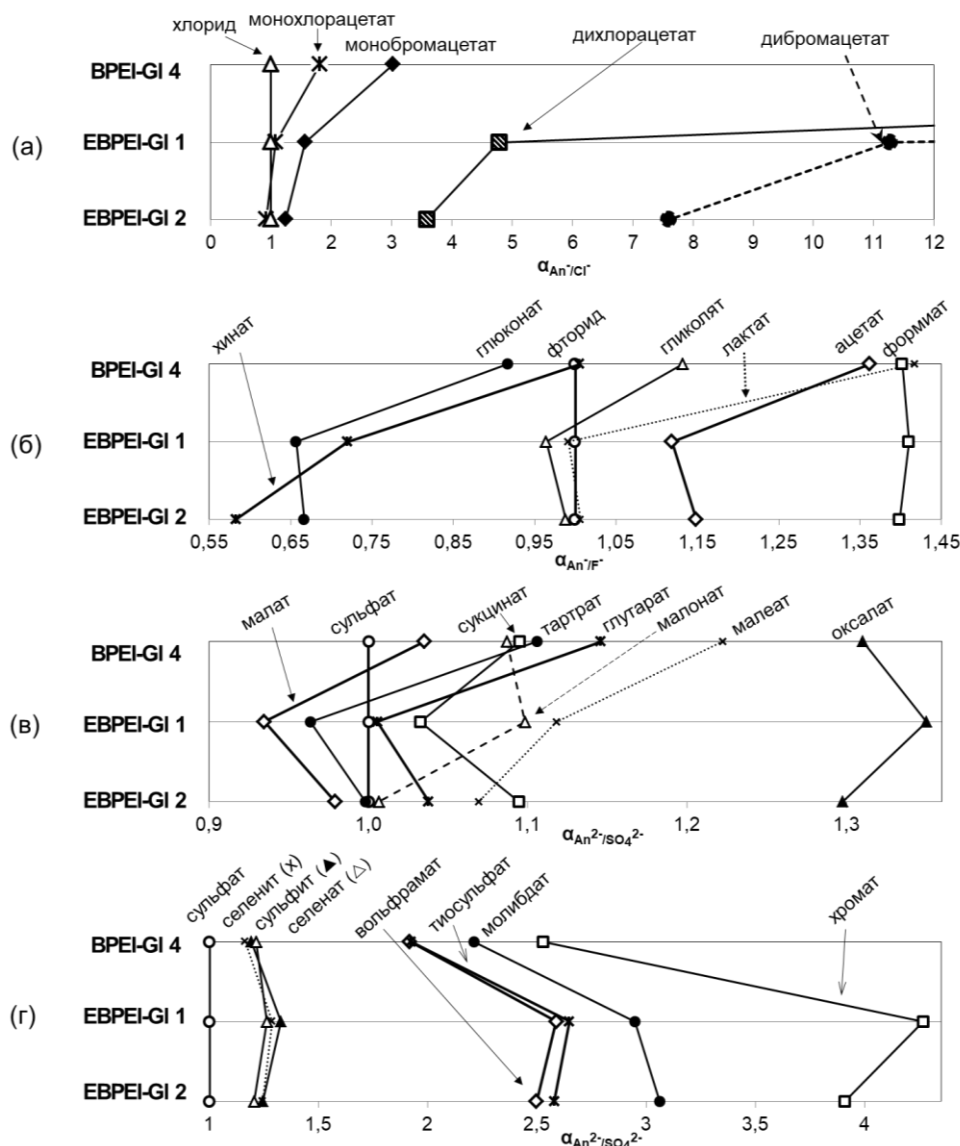


Рис. 57. Селективность фаз по отношению к: (а) галогенуксусным кислотам, анионам одно- (б) и двухосновных (в) органических кислот и оксоанионам (г) сорбентов ЕВРЕИ-Г1 1 и ЕВРЕИ-Г1 2 в сравнении с ВРЕИ-Г1 4. Условия: (а): Элюент: ЕВРЕИ-Г1 1 – 10 мМ КОН, ЕВРЕИ-Г1 2 – 2 мМ КОН для моногалогенацетатов, 10 мМ КОН для дигалогенацетатов, ВРЕИ-Г1 4 – 4 мМ КОН для моногалогенацетатов, 20 мМ КОН для дигалогенацетатов. Температура колонки: 20°C. (б): Элюент: ЕВРЕИ-Г1 1 – 10 мМ КОН, ЕВРЕИ-Г1 2 – 2 мМ КОН, ВРЕИ-Г1 4 – 1 мМ КОН. (в): Элюент: ЕВРЕИ-Г1 1 – 8 мМ КОН, ЕВРЕИ-Г1 2 – 4 мМ КОН, ВРЕИ-Г1 4 – 3 мМ КОН. (г): Элюент: ЕВРЕИ-Г1 1 – 10 мМ КОН, ЕВРЕИ-Г1 2 – 4 мМ КОН, ВРЕИ-Г1 4 – 3 мМ КОН.

Снижение относительного удерживания при переходе от фазы ВРЕИ-Г1 4 к ЕВРЕИ-Г1 1 наблюдалось и для анионов других органических кислот, хотя и в значительно меньшей степени (рис. 57б, 57в). Например, происходило изменение

порядка элюирования лактата относительно формиата, ацетата и фторида за счёт резкого снижения его удерживания. При переходе к эпоксицированной матрице снижалось относительное удерживание практически всех анионов двухосновных органических кислот, за исключением малоната и оксалата, относительное удерживание которых не изменялось. В результате на анионообменнике ЕВРЕИ-Г1 1 малат и тартрат элюировались до сульфата. Что касается оксоанионов, наиболее заметным изменением при переходе от фазы ВРЕИ-Г1 4 к ЕВРЕИ-Г1 1 являлся рост селективности по паре хромат/молибдат. Полимеризация глицидола не оказывала значительного влияния на селективность по отношению к анионам слабоудерживаемых и двухосновных органических кислот, как и на селективность по отношению к оксоанионам.

Тест Танака показал, что сорбент ЕВРЕИ-Г1 1 обладает более высоким значением $k(U)$ по сравнению с фазой ЕВРЕИ-Г1 2 (табл. 41). Это согласуется с результатами, описанными в разделе 3.2.2. и говорит о слабых перспективах использования реакции полимеризации глицидола в функциональном слое сорбента для повышения его гидрофильности в режиме ГИХ. По остальным параметрам обе фазы близки, за исключением $\alpha(AX)$, которая для сорбента ЕВРЕИ-Г1 2 с меньшей ионообменной ёмкостью примерно на 70% ниже. В целом оба сорбента отличались минимальными значениями $\alpha(AX)$, в сравнении с остальными фазами, полученными в данной работе и в статьях [41,43].

Таблица 41. Величины коэффициентов селективности теста Танака для сорбентов ЕВРЕИ-Г1 1 и сорбентов ЕВРЕИ-Г1 2. Условия см. гл. 2.7.

Сорбент	ЕВРЕИ-Г1 1	ЕВРЕИ-Г1 2
$k(U)$	1,71	1,47
$\alpha(OH)$	1,86	1,82
$\alpha(CH_2)$	1,37	1,36
$\alpha(V/A)$	1,41	1,38
$\alpha(CX)$	0	0
$\alpha(AX)$	24,5	14,1
$\alpha(Tb/Tr)$	0,51	0,51

При сравнении фаз ЕВРЕИ-Г1 1 и ВРЕИ-Г1 х3, обладавших одинаковым $k(Cl^-)$, можно отметить для первой на 30% большее значение $k(U)$ и меньшее в 2,4 раза значение $\alpha(AX)$. Такое существенное снижение удерживания гидрофобного п-толуолсульфоната для неподвижных фаз на основе эпоксицированной матрицы

является свидетельством эффективного экранирования ароматической основы сорбента.

Наиболее гидрофильный согласно тесту Танака сорбент EBPEI-G1 1 исследовали в режиме ГИХ и провели его сравнение с фазой BPEI-G1 x3. Факторы удерживания аминокислот согласовались с $k(U)$ сорбентов (рис. 58а). С точки зрения селективности при сравнении с BPEI-G1 x3 можно отметить значительное снижение относительного удерживания (вплоть до изменения порядка элюирования) гидрофобных аминокислот — фенилаланина, метионина и тирозина (рис. 58б). В результате фенилаланин и метионин на новом сорбенте элюировались раньше пролина. Полученный порядок удерживания аминокислот является характерным для гидрофильных фаз на основе силикагеля и говорит о снижении влияния гидрофобных взаимодействий этих аналитов с матрицей. Эффективность у сравниваемых сорбентов схожая, однако, фаза EBPEI-G1 1 характеризовалась меньшей эффективностью по гидрофобным аминокислотам и несколько меньшей симметрией их пиков (табл. 42). Сорбент EBPEI-G1 1 позволил разделить смесь 7 аминокислот за 20 мин с эффективностью до 14500 тг/м и высокой симметрией пиков (рис. 58в). Сорбент EBPEI-G1 1 обладал меньшей разделяющей способностью по аминокислотам по сравнению с BPEI-G1 x3. В то же время при сравнении с сорбентом с привитым гиперразветвленным слоем на основе химически модифицированного ПС-ДВБ [43], можно отметить, что фаза EBPEI-G1 1 обеспечивает элюирование большего числа аминокислот за в 3 раза меньшее время с лучшей формой пиков.

Факторы удерживания коррелировали с $k(U)$ фаз не для всех витаминов (рис. 59а). Например, для аскорбиновой и никотиновой кислот происходило их снижение для фазы EBPEI-G1 1, для B_2 они совпали для обеих фаз, а для остальных витаминов — возрастали. Наиболее интересным является удерживание на сорбенте EBPEI-G1 1 положительно заряженного тиамин (B_1), который на фазе BPEI-G1 x3 и всех остальных полученных в работе не удерживался. На фазе EBPEI-G1 1 он элюировался совместно с никотинамидом (рис. 59б), и в результате данная колонка обеспечила разделение смеси 6 водорастворимых витаминов за 18 мин в градиентном режиме (рис. 59в). Предположительно, удерживание тиамин возрастало из-за повышения гидрофильности сорбента, а также из-за появления на поверхности

матрицы карбоксильных групп, до которых могут частично окисляться оксирановые кольца.

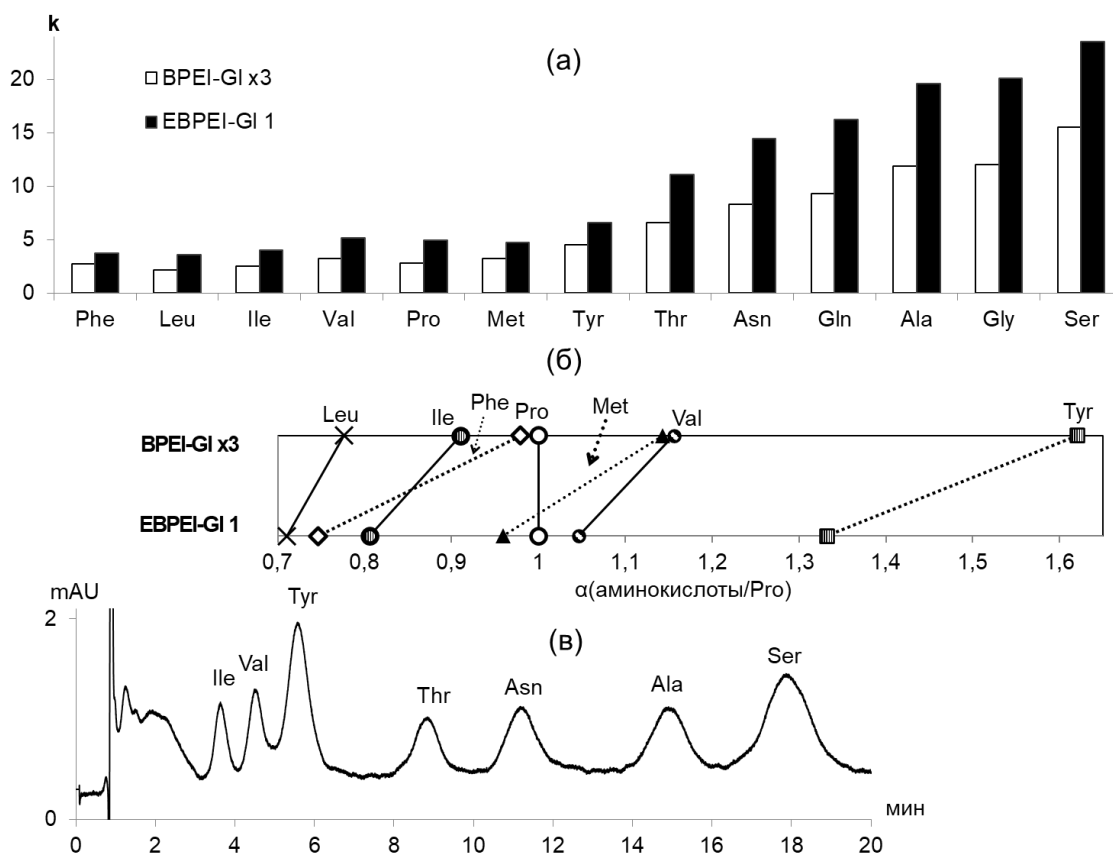


Рис. 58. Факторы удерживания аминокислот (а), их коэффициенты селективности α (аминокислота/Pro) (б) на фазах EBPEI-GI 1 и BPEI-GI x3, а также хроматограмма разделения их смеси на сорбенте EBPEI-GI 1. Условия см. гл. 2.7.

Таблица 42. Эффективность (N, тт/м) и асимметрия пиков (As) для аминокислот, витаминов и сахаров, полученные для колонки EBPEI-GI 1. Условия см. гл. 2.7.

Аминокислоты			Витамины			Сахара		
Аналит	N, тт/м	As	Аналит	N, тт/м	As	Аналит	N, тт/м	As
Phe	4500	1,5	В ₁	2500	1,1	рибоза	6000	1,0
Leu	6500	1,2	Никотинамид	5500	1,0	ксилоза	3000	1,0
Ile	7000	1,0	В ₆	5500	1,1	фруктоза	6500	1,0
Val	8000	1,0	В ₂	3500	1,3	глюкоза	3500	0,9
Pro	9000	0,9	В ₁₂	4000	1,3	сахароза	5500	1,0
Met	6000	1,2	С	7000	0,9	лактоза	4000	0,9
Tyr	5500	1,2	Никотиновая кислота	9500	0,9	мальтоза	4500	1,2
Thr	8500	1,1	—	—	—	раффиноза	7000	0,9
Gln	11000	1,1	—	—	—	—	—	—
Asn	14500	1,0	—	—	—	—	—	—
Gly	12000	1,1	—	—	—	—	—	—
Ala	13000	0,9	—	—	—	—	—	—
Ser	11000	1,0	—	—	—	—	—	—

Сорбент ВРЕИ-GI 1 характеризовался меньшей эффективностью по витаминам, чем фаза ВРЕИ-GI х3, что может быть связано с качеством упаковки колонки. Так, например, в режиме ИХ с подавлением он также проигрывал в абсолютной эффективности по хлориду (18500 против 31000 тт/м). По сравнению с фазой с гиперразветвленным слоем [43] он обеспечивал более экспрессное разделение витаминов с лучшей формой пиков.

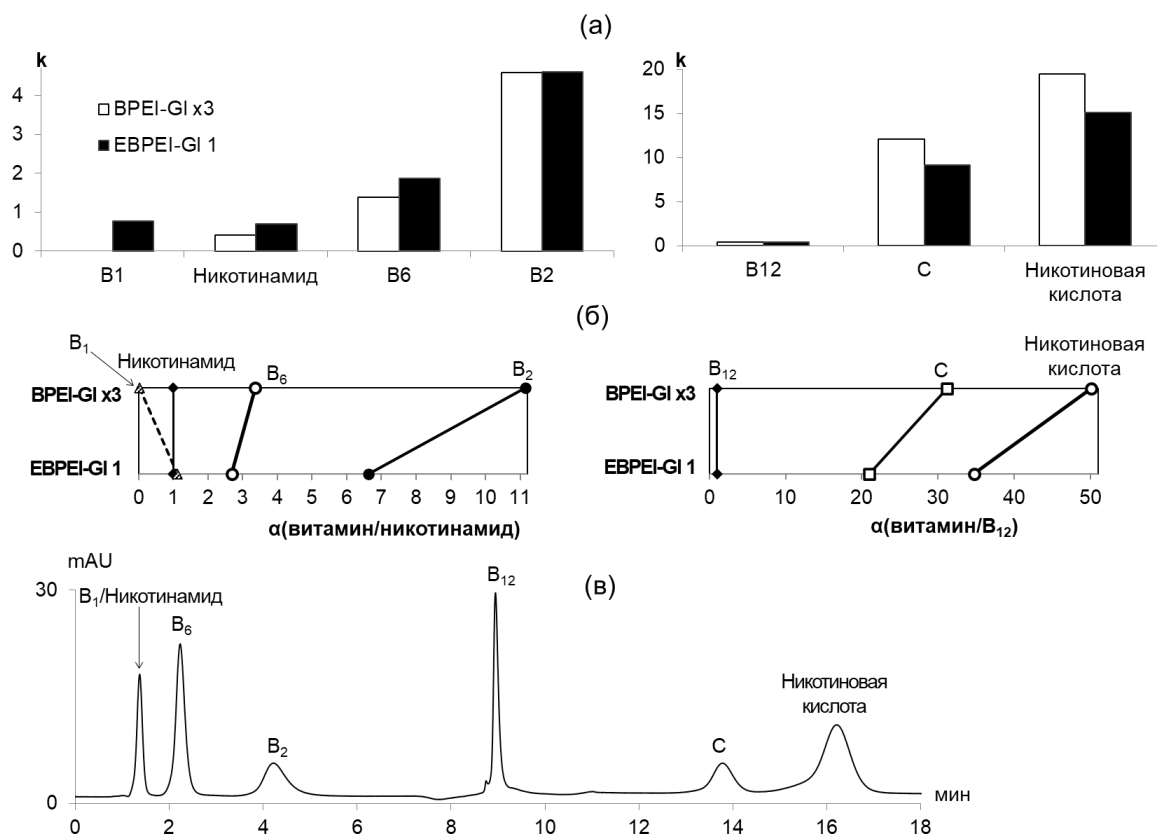


Рис. 59. Факторы удерживания водорастворимых витаминов (а), их коэффициенты селективности α (витамин/никотинамид) для слабоудерживаемых и α (витамин/ B_{12}) для сильноудерживаемых (б) на фазах ВРЕИ-GI х3 и ВРЕИ-GI 1, а также хроматограмма разделения их смеси на сорбенте ВРЕИ-GI 1. (а), (б): Условия см. гл. 2.7. (в): Элюент: CH_3CN – 100 мМ АФБ, рН 3,0; градиентное элюирование: 0-5,5 мин — 7% буферного раствора, 5,5-8,0 мин — 7-30% буферного раствора. Другие условия см. гл. 2.7.

Факторы удерживания сахаров коррелировали с $k(U)$ фаз (рис. 60а). По селективности к сахарам сорбенты ВРЕИ-GI 1 и ВРЕИ-GI х3 близки, однако полученная фаза ВРЕИ-GI 1 характеризовалась лучшей симметрией пиков, а также более высокой эффективностью (рис. 60б, табл. 42). Она обеспечила разделение 5 сахаров за 9 мин с эффективностью до 6500 тт/м, а также позволила элюировать раффинозу за 20 мин (рис. 60в).

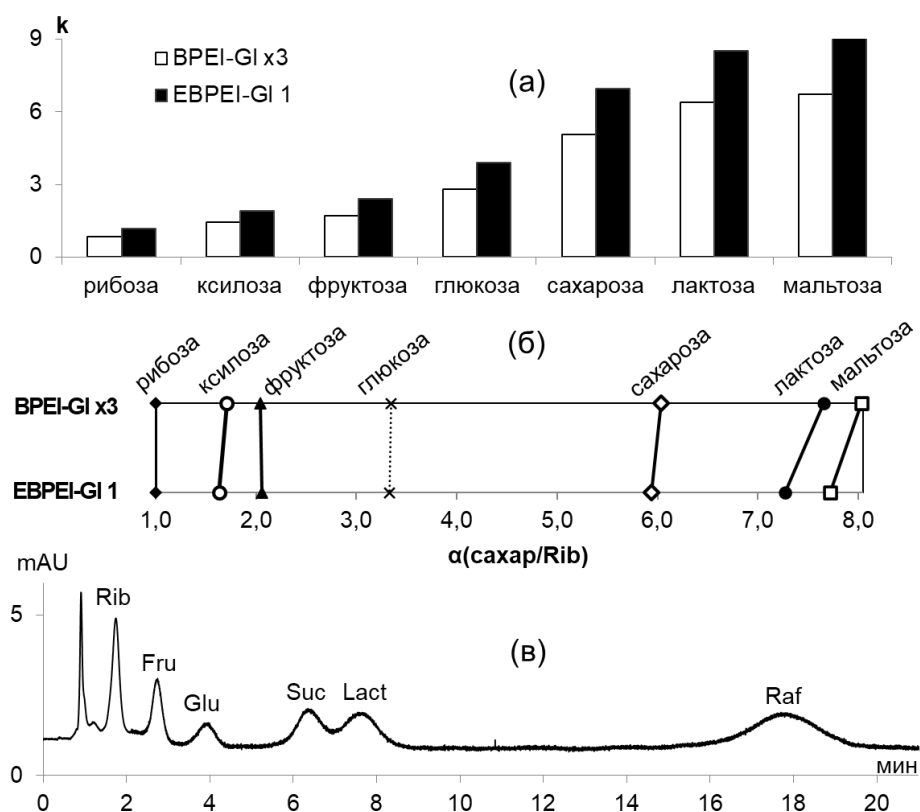


Рис. 60. Факторы удерживания сахаров (а), их коэффициенты селективности α (аналит/Rib) (б) на фазах EBPEI-GI 1 и BPEI-GI x3, а также хроматограмма разделения их смеси на сорбенте EBPEI-GI 1. Условия см. гл. 2.7.

Таким образом, замена способа модифицирования ПС-ДВБ на эпоксицирование привела к резкому снижению удерживания слабо гидратированных оксогалогенидов и поляризуемых анионов и к росту симметрии их пиков в режиме ИХ, а в режиме ГИХ к снижению относительного удерживания гидрофобных аминокислот, а также к улучшению симметрии пиков для большинства исследованных аналитов. Повышение степени гидрофилизации сорбентов за счёт эпоксицирования ПС-ДВБ оказалось более действенным способом по сравнению с полимеризацией глицидола в щелочной среде. Тем не менее, одновременное использование этих двух подходов обеспечило максимальную степень экранирования матрицы. Сорбенты, полученные в данной работе, по гидрофильности сравнимы с наиболее гидрофильными ковалентно привитыми анионообменниками, описанными в литературе [103,106]. Следовательно, эпоксицирование ПС-ДВБ с последующим ковалентным закреплением гидрофилизованного ПЭИ является перспективным подходом для получения высокогидрофильных неподвижных фаз, которые подходят как для определения сильноудерживаемых и слабо гидратированных анионов в режиме ИХ, так и для определения различных полярных аналитов в режиме ГИХ.

ГЛАВА 4. Изучение стабильности хроматографических колонок

Для оценки перспективности использования разработанных сорбентов изучена стабильность анионообменника с привитыми полиэлектролитами $n(\text{B-DMA}) \times 3$ путем непрерывного пропускания элюента через колонку и ежедневного фиксирования исправленных факторов удерживания аналитов. Так как данный сорбент является многофункциональным и может быть использован в трех режимах (ГИХ, ОФ ВЭЖХ и ИОХ, в том числе в варианте ИХ с подавлением фоновой электропроводности), то интересным представлялось оценить его стабильность при переключении между этими режимами. В качестве исследуемых анионов в режиме ИХ выбрали неполяризуемые фторид-, хлорид- и сульфат-ионы, удерживание которых определяется в основном электростатическими взаимодействиями, вследствие чего зависит главным образом от ионообменной ёмкости сорбента. Также изучали удерживание поляризуемых нитрит- и нитрат-ионов, в удерживание которых вклад могут вносить неионообменные взаимодействия с матрицей. Кроме того, интерес представляла оценка изменений в удерживании анионов фосфоновых кислот — 3-ГМФП и трет-бутилфосфоната. Для экспрессного элюирования одно- и двухзарядных анионов использовали 25 мМ КОН в качестве элюента. В режиме ГИХ для оценки стабильности выбрали витамины (никотинамид, B_6 и B_2) и нуклеозиды (цитидин и гуанозин). Также в аналогичных условиях изучали удерживание гексилбензола, удерживаемого по ОФ механизму. В качестве элюента использовали 100 мМ АФБ (рН 3.0) – CH_3CN (10:90, об.%). На рис. 61 продемонстрированы графики зависимостей факторов удерживания выбранных аналитов (чёрным обозначены анионы в режиме ИХ, а серым аналиты в ГИХ/ОФ ВЭЖХ) от общего объема элюента, пропущенного через колонку. Для удобства по оси абсцисс дополнительно представлены отношение объёма элюента, пропущенного через колонку, к объёму колонки, а также время эксплуатации колонки.

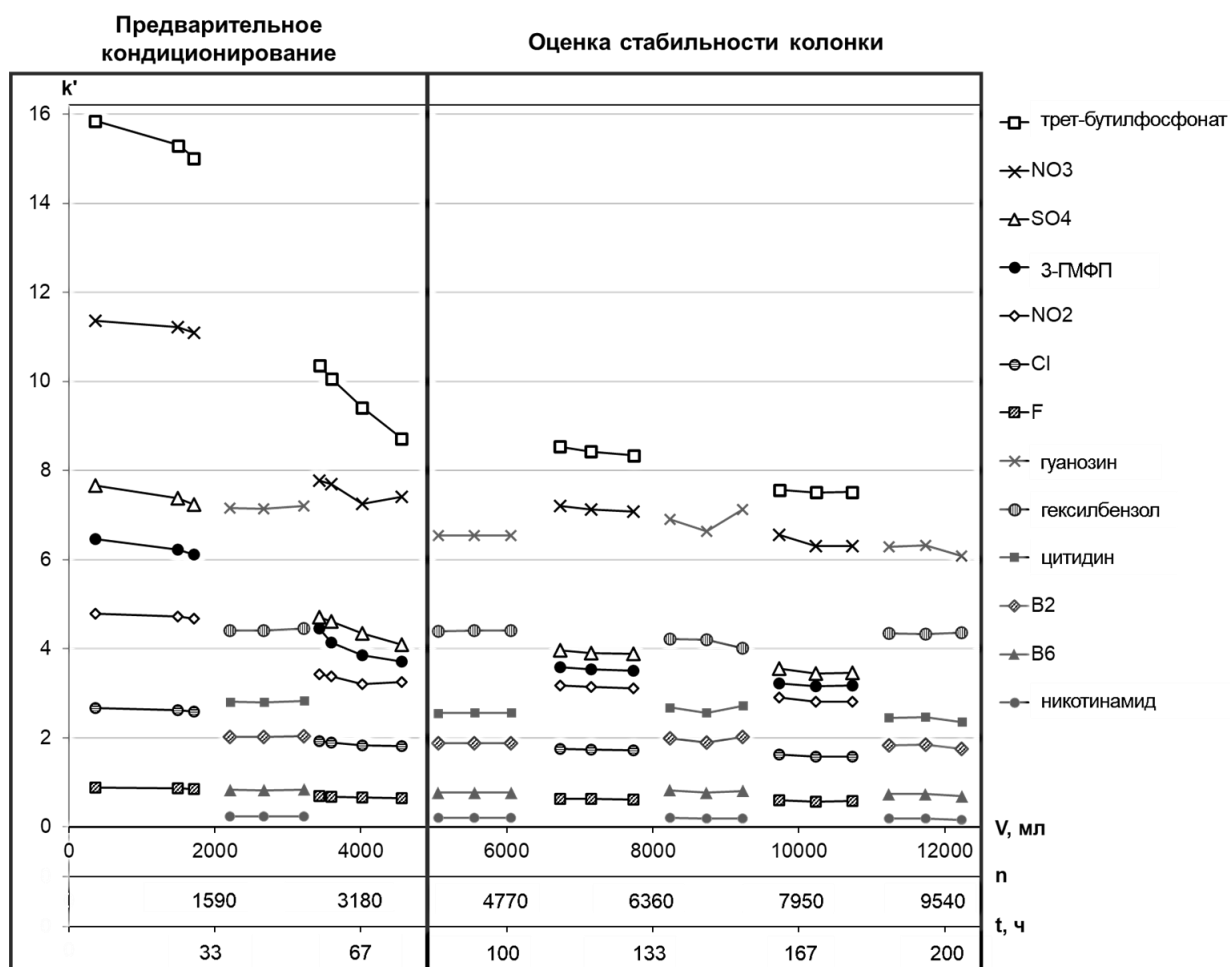


Рис. 61. Изменение факторов удерживания полярных веществ в ходе эксплуатации колонок и при переключении между режимами ИХ с подавлением (чёрные линии) и ГИХ/ОФ ВЭЖХ (серые линии) для фазы $n(B-DMA) \times 3$. Элюент: в режиме ИХ — 25 мМ КОН; в режиме ГИХ — 100 мМ АФБ (pH 3.0) – CH_3CN (10:90, об.%). Скорость потока: 1 мл/мин. УФ при 270 нм. Температура колонки: 30°C. n – отношение суммарного объёма пропущенного элюента в разных режимах к объёму колонки.

По мере пропуска элюента наблюдается снижение факторов удерживания как поляризуемых, так и неполяризуемых анионов и анионов фосфовых кислот. Уменьшение времен удерживания, возможно, связано с падением ионообменной ёмкости сорбента в процессе эксплуатации, что характерно, и для коммерческих анионообменников. Максимальные изменения факторов удерживания в ходе эксплуатации колонки $n(B-DMA) \times 3$ в режиме ИХ после пропуска 10,7 л элюента отметили для двухзарядных анионов — они уменьшились на 51, 55 и 53% для 3-ГМФП, сульфата и трет-бутилфосфоната. Наименьшее снижение фактора удерживания было для фторида — 34%. В режиме ГИХ наибольшее снижение фактора удерживания наблюдалось для слабоудерживаемого никотинамида и составило 33%, для остальных витаминов и двух исследуемых нуклеозидов изменения составили меньше 19%. Для гексилбензола фактор удерживания не

менялся со временем. При этом, несмотря на снижение времен удерживания аналитов в режиме ИХ и ГИХ, длительное время сохранялись или менялись незначительно селективность разделения и эффективность колонки (табл. 43, 44).

Таблица 43. Изменение эффективностей колонки $n(\text{В-DMA}) \times 3$ в режиме ИХ в процессе эксплуатации (ТТ/м). n – отношение суммарного объема пропущенного элюента в разных режимах к объему колонки

Анион	$n=290$	$n=2735$	$n=8535$
фторид	22500	22500	19000
хлорид	28500	31000	31000
нитрит	27000	28000	30000
3-ГМФП	13500	14500	16000
сульфат	19000	21500	22500
нитрат	22500	24500	31500
трет-бутилфосфонат	9500	10000	11000

Таблица 44. Изменение эффективностей колонки $n(\text{В-DMA}) \times 3$ в режиме ГИХ в процессе эксплуатации (ТТ/м). n – отношение суммарного объема пропущенного элюента в разных режимах к объему колонки

Анион	$n=1750$	$n=6550$	$n=9730$
Никотинамид	22000	17000	19000
В_6	13000	11500	13500
В_2	12000	11500	12500
Цитидин	15000	16000	17000
Гексилбензол	12000	12500	13000
Гуанозин	15000	16500	17500

Как видно из рис. 61, наиболее значительное снижение удерживания всех исследуемых анионов в режиме ИХ произошло при первом переходе в режим ГИХ и обратно. Возможно, снижение факторов удерживания связано со смыванием адсорбированных на сорбенте во время синтеза полиэлектролитов при использовании органического растворителя в качестве элюента. Кроме того, может происходить изменения конформации полиэлектролитных слоёв в органическом растворителе, которое приводит к уменьшению доступности части ионообменных центров.

Была исследована возможность повышения стабильности таких фаз за счёт введения дополнительной процедуры промывки сорбента после синтеза и упаковки колонки с помощью органического растворителя, однако, данные действия не позволили увеличить стабильность. Таким образом, для сорбентов с подобной структурой необходимо несколько раз переключиться между режимами, чтобы полиэлектролиты пришли в равновесие для дальнейшей стабильной работы.

ГЛАВА 5. Анализ реальных объектов

5.1. Анализ вод

Полученный в данной работе анионообменник ВРЕI-GI 24ч характеризуется высокой ионообменной ёмкостью, и позволяет экспрессно определять неорганические анионы. Для оценки применимости сорбентов выбрали морскую воду — одну из наиболее сложных водных матриц окружающей среды, в которой концентрации анионов могут различаться на несколько порядков [7]. В предложенных условиях на данном сорбенте, упакованном в колонку 100 × 4 мм, был выполнен анализ вод Средиземного, Черного, Баренцева и Каспийского морей (рис. 62а), а также питьевой воды «Акваника» (рис. 62б). Пробоподготовка заключалась в фильтровании вод через тefлоновый фильтр и разбавлении в случае морских вод. Оценка воспроизводимости и правильности метода и результаты анализа вод представлены в табл. 45, 46 и 47.

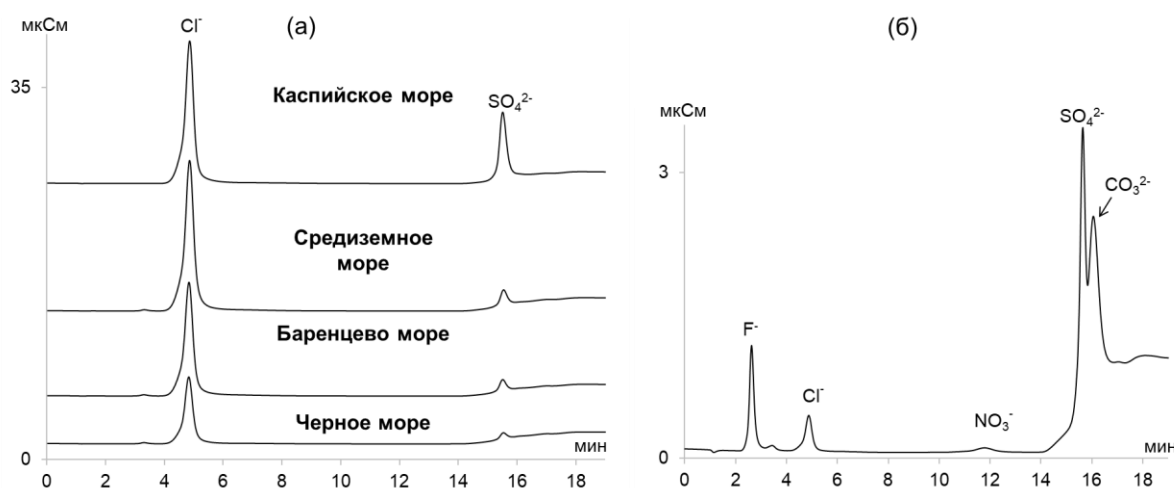


Рис. 62. Хроматограммы морских вод с разбавлением в 200 раз для воды Каспийского моря и в 800 раз для остальных (а) и питьевой воды «Акваника» (б) на сорбенте ВРЕI-GI 24ч. Элюент: 0-12,5 мин – 6 мМ КОН, 12,5-16 мин – 6-30 мМ КОН. Скорость потока: 1,0 мл/мин.

Таблица 45. Метрологические характеристики методики при разделении на сорбенте ВРЕI-GI 24ч

Анион	Диапазон линейности градуировочной зависимости, мг/л	Уравнение	r	C _{min} , мг/л
Фторид	0,5-50	$y = 18,127x + 1,6399$	0,999	0,02
Хлорид	0,5-50	$y = 13,761x - 6,1546$	0,999	0,1
Нитрит	0,5-50	$y = 10,575x - 4,5355$	0,999	0,05
Бромид	0,5-50	$y = 6,3359x - 4,6331$	0,999	0,08
Нитрат	0,5-50	$y = 8,1608x - 5,5532$	0,999	0,1
Сульфат	0,5-50	$y = 9,2365x - 8,3735$	0,999	0,5
Фосфат	0,5-50	$y = 3,8017x - 5,7154$	0,996	0,2

Таблица 46. Воспроизводимость в течение суток на сорбенте ВРЕI-GI 24 ч ($n=3$, $P=0,95$)

Анион	Концентрация, мг/л	Воспроизводимость в течение суток, s_r , %
Фторид	1,0	0,004
Хлорид	25	0,01
Нитрит	1,0	0,04
Бромид	1,0	0,04
Нитрат	1,0	0,03
Сульфат	5,0	0,02
Фосфат	5,0	0,05

Таблица 47. Содержание анионов и оценка правильности метода определения неорганических анионов в водах на сорбенте ВРЕI-GI 24ч ($n =3$, $P = 0,95$)

Объект	Черное море			Средиземное море		
	В пробе без добавки, г/л	Введено, г/л	Найдено, г/л	В пробе без добавки, г/л	Введено, г/л	Найдено, г/л
Хлорид	$8,8 \pm 0,2$	4,8	$12,8 \pm 0,4$	$20,8 \pm 0,2$	10,4	32 ± 1
Сульфат	$1,60 \pm 0,02$	0,8	$2,00 \pm 0,02$	$2,8 \pm 0,1$	1,6	$4,7 \pm 0,1$
Объект	Баренцево море			Каспийское море		
	В пробе без добавки, г/л	Введено, г/л	Найдено, г/л	В пробе без добавки, г/л	Введено, г/л	Найдено, г/л
Хлорид	$15,6 \pm 0,6$	8,0	$23,2 \pm 0,2$	$4,8 \pm 0,3$	2,4	$6,9 \pm 0,1$
Сульфат	$2,27 \pm 0,02$	1,2	$3,7 \pm 0,2$	$2,8 \pm 0,3$	1,4	$4,0 \pm 0,1$
Объект	Вода «Акваника»					
	В пробе без добавки, мг/л		Введено, мг/л		Найдено, мг/л	
Фторид	$0,8 \pm 0,1$		0,5		$1,1 \pm 0,1$	
Хлорид	$1,1 \pm 0,1$		0,5		$1,7 \pm 0,1$	
Нитрат	$1,0 \pm 0,1$		0,5		$1,3 \pm 0,1$	
Сульфат	$6,0 \pm 0,2$		3,0		$8,3 \pm 0,3$	

Анализ основных компонентов, таких как хлорид и сульфат, относительно прост и требует лишь разбавления. Однако анализ остальных компонентов в пробах высокой солёности представляет собой сложную задачу для ИХ и может быть осуществлен только при тщательном подборе хроматографических условий. Высокоёмкостный сорбент ВРЕI-GI 24 ч подходил для определения небольших концентраций бромидов в матрицах с высоким содержанием остальных компонентов. Применимость этой фазы оценивали при определении содержания бромидов в тех же образцах морской воды (рис. 63). С целью достижения лучшего разрешения бромидов и хлоридов условия элюирования изменили по сравнению с условиями, приведенными ранее на рис. 62 — уменьшили начальную концентрацию элюента с 6 до 4 мМ КОН. Пробу предварительно фильтровали с помощью шприц-фильтра и анализировали без

разбавления. Результаты определения бромидов представлены в табл. 48. Как можно видеть из табл. 47 и 48, бромидов в Каспийском море было обнаружено более чем в 1400 раз меньше, чем суммарно хлорида и сульфата, однако полученный сорбент с высокой ёмкостью успешно справляется с этой задачей.

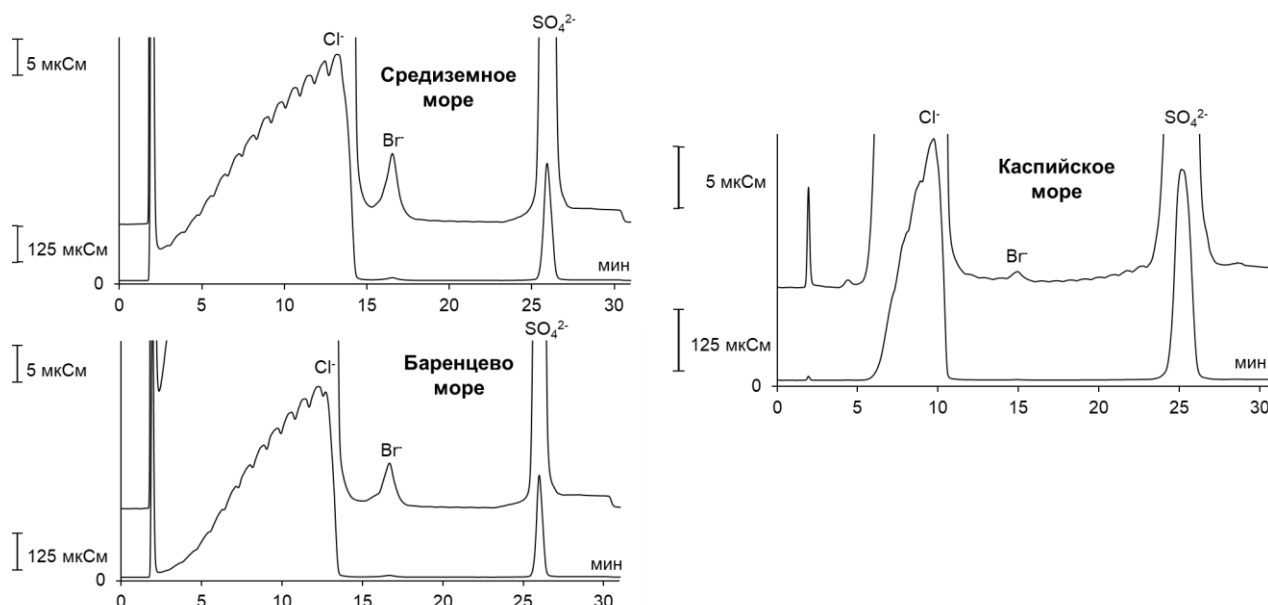


Рис. 63. Хроматограммы проб морской воды на сорбенте ВРЕИ-Г1 24 ч. Колонка: 100 × 4 мм. Элюент: 0-21 мин – 4 мМ КОН, 21-26 мин – 4-30 мМ КОН. Скорость потока: 1 мл/мин.

Таблица 48. Характеристики метода определения бромидов в морской воде на сорбенте ВРЕИ-Г1 24 ч

Анион	Бромид		
Диапазон линейности градуировочной зависимости, мг/л	0,5 – 100		
Уравнение градуировочной зависимости	$y = 0,1208x - 0,0581$		
r	0,999		
C_{\min} , мг/л	0,3		
Воспроизводимость в течение суток, sr	0,007		
Межсуточная воспроизводимость	0,013		
Проба	Средиземное море	Баренцево море	Каспийское море
В пробе без добавки, мг/л	53 ± 3	49 ± 5	$5,2 \pm 0,2$
Введено, мг/л	40	40	5
Найдено, мг/л	100 ± 6	85 ± 5	$9,5 \pm 0,5$

5.2. Анализ фармацевтического препарата

Высокая гидрофильность анионообменника ВРЕИ-Г1 2 позволяет использовать его для экспрессного и высокоэффективного определения сильнополярных анионов, что представляет проблему для классических химических

модифицированных сорбентов. На данном сорбенте, упакованном в колонку 100 × 4 мм, был выполнен анализ лекарственного препарата «Калия иодид Реневал» (рис. 64). Пробоподготовка заключалась в измельчении 1 таблетки с помощью ступки и пестика с последующим растворением в 25 мл деионизованной воды. Далее суспензию фильтровали через патрон «Chromabond C₁₈ ec f», содержащий сорбент на основе силикагеля с привитыми радикалами C₁₈ («Macherey-Nagel», Германия). Патрон предварительно активировали с помощью 5 мл метанола с последующей промывкой деионизованной водой. Уравнение градуировочного графика, диапазон линейности, коэффициенты корреляции и пределы обнаружения представлены в табл. 49. В инструкции заявлено содержание иодида 100 мкг в 1 таблетке, нами обнаружено 88 ± 2 мкг.

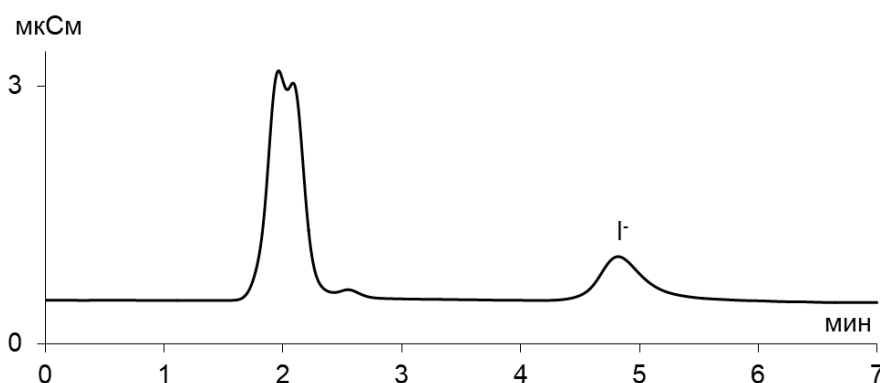


Рис. 64. Хроматограмма пробы препарата «Калия иодид Реневал» на сорбенте ЕВРЕИ-Г1 2. Элюент: 30 мМ КОН. Скорость потока: 1 мл/мин.

Таблица 49. Характеристики метода определения иодида в 1 таблетке препарата «Калия иодид Реневал» на сорбенте ЕВРЕИ-Г1 2

Анион	Иодид
Диапазон линейности градуировочной зависимости, мг/л	0,5 – 50
Уравнение градуировочной зависимости	$y = 0,0712x - 0,0222$
r	0,999
S_{\min} , мг/л	0,03
Воспроизводимость в течение суток, s_r	0,02
В пробе без добавки, мг/л	$3,51 \pm 0,06$
Введено, мг/л	3
Найдено, мг/л	$6,5 \pm 0,1$
В 1 таблетке без добавки, мкг	88 ± 2

5.3. Анализ почвенных экстрактов

Так как при МС-детектировании есть ограничения по концентрации солей в элюенте и пробах, повысить экспрессность анализа за счёт повышения концентрации буфера в элюенте не всегда представляется возможным. В связи с этим в качестве

неподвижной фазы выбрали сорбент $n(\text{B-MEA})$, полученный аналогично $n(\text{B-DMA})$, но с МЭА вместо ДМА. От фазы $n(\text{B-MEA})$ $\times 3$ он отличался меньшим временем инициализации роста полиэлектролитов, температурой синтеза 60°C и в 3 раза меньшим количеством реагентов. В результате сорбент $n(\text{B-MEA})$ характеризовался значительно меньшей ёмкостью, чем другие фазы с привитыми полиэлектролитами, и на нём удалось осуществить экспрессное разделение 7 фосфоновых кислот за 22 мин (рис. 65). Применимость полученных сорбентов показана на примере анализа почвенных экстрактов. Правильность предложенных подходов проверили методом «введено-найдено» с добавками определяемых фосфоновых кислот на двух уровнях содержаний вблизи нижней границы диапазона линейности и в его середине (табл. 50). Найденные количества согласуются с введёнными.

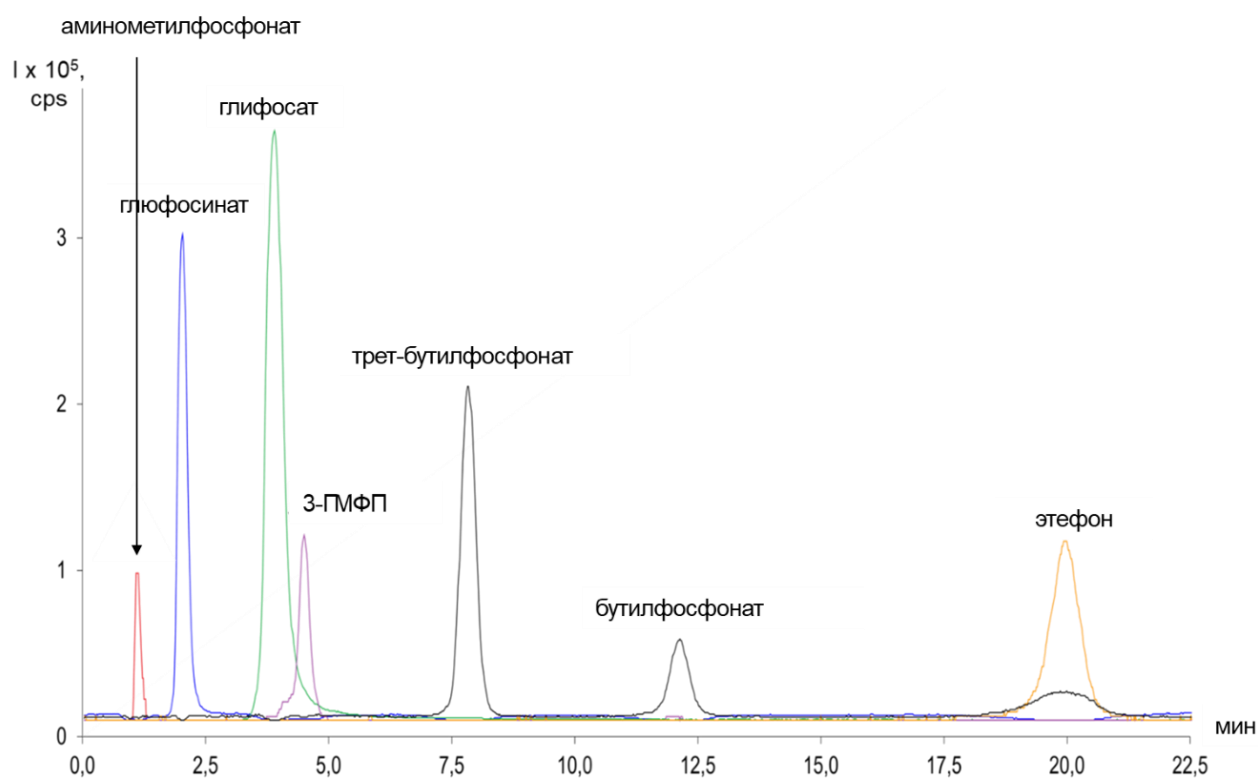


Рис. 65. Хроматограммы фосфоновых кислот на фазе $n(\text{B-MEA})$. Элюент: CH_3CN и 0,5% HCOOH – 12,5 мМ АФБ и 0,5% HCOOH (30:70, об. %). Скорость потока: 0,7 мл/мин. МС-детектирование. Температура колонки: 30°C

Таблица 50. Характеристики метода определения фосфоновых кислот в почвенной вытяжке на сорбенте n(B-MEA)

Аналит	C _{min} , мг/л	Диапазон линейности, мг/л	Уравнение, $y = (A \pm \%)X$, мкг/л	r	Процент восстановления	
					2 мг/л	6 мг/л
Аминометилфосфонат	0,7	2-10	$y = (3,9 \pm 0,3)x$	0,997	113 \pm 11	109 \pm 6
Глюофосинат	0,15	0,5-10	$y = (450 \pm 30)x$	0,996	101 \pm 5	96 \pm 9
Глифосат	0,15	0,5-10	$y = (1030 \pm 40)x$	0,999	108 \pm 2	97 \pm 5
3-ГМФП	0,3	1-10	$y = (60 \pm 4)x$	0,998	114 \pm 4	93 \pm 8
Бутилфосфонат	0,7	2-10	$y = (310 \pm 15)x$	0,997	114 \pm 3	89 \pm 7
Трет-бутилфосфонат	0,7	2-10	$y = (97 \pm 4)x$	0,997	115 \pm 9	115 \pm 5
Этефон	0,7	2-10	$y = (118 \pm 8)x$	0,998	107 \pm 3	109 \pm 10

Применимость полученных сорбентов для работы в режиме ГИХ с МС-детектированием оценили на примере разделения аминокислот. Полученный в данной работе сорбент n(B-DMA) характеризуется достаточно высокой селективностью к аминокислотам, а также не очень высокой гидрофильностью, поэтому не нём удаётся осуществить их экспрессное разделение (рис. 6б). На данном сорбенте, упакованном в колонку 100 × 4 мм, был выполнен анализ почвенной вытяжки. Пробоподготовка заключалась в встряхивании на шейкере 15 г предварительно высушенной, измельченной почвы, суспендированной в 75 мл деионизованной воды в течение 15 мин. После чего пробу отстаивали в течение 10 мин и фильтровали через фильтр «Синяя лента». В почвенных вытяжках не было обнаружено аминокислот (рис. 6ба). Оценка правильности определения представлена в табл. 51. Также проводили сравнение с сорбентом на основе силикагеля, полученным по реакции Уги [118]. Было показано, что в сравнении с ним, фаза n(B-DMA) на основе ПС-ДВБ дополнительных сигналов и увеличения уровня фона не даёт, что свидетельствует о высокой стабильности закрепления функционального слоя на полимерной матрице.

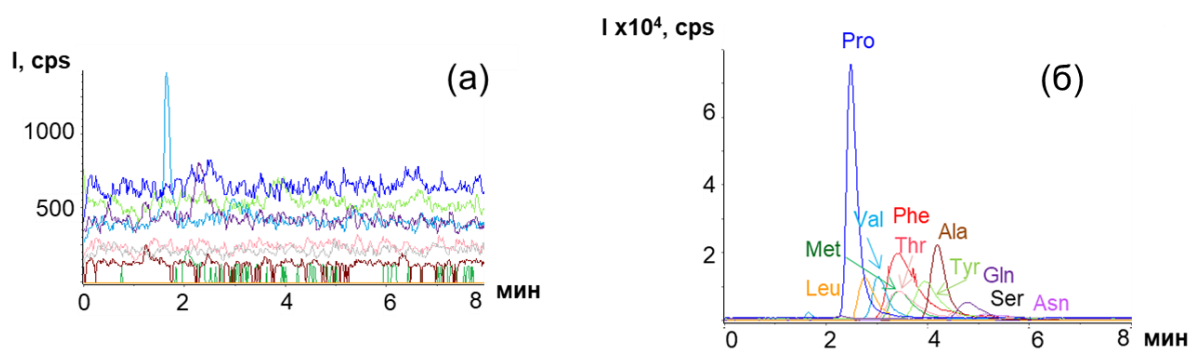


Рис. 66. Хроматограммы холостого образца (а) и почвенного экстракта с добавкой аминокислот на уровне содержания 1 мг/л (б) на фазе п(В-DМА). Элюент: CH₃CN – 10 мМ АФБ, рН 4,7 (85,5:14,5, об. %). Скорость потока: 0,8 мл/мин. МС-детектирование.

Таблица 51. Характеристики метода определения аминокислот в почвенной вытяжке на сорбенте п(В-DМА)

Аналит	C _{min} , мг/л	Диапазон линейности, мг/л	Уравнение, y = (A±%)X мг/л	r	Процент восстановления	
					0,5 мг/л	1 мг/л
Phe	0,08	0,3-5	y = (1020±80)x	0,997	102±8	93±2
Leu	0,4	1-10	y = (290±20)x	0,996	87±12	90±3
Met	0,3	0,8-10	y = (300±30)x	0,998	85±8	97±4
Tyr	0,4	1-10	y = (330±20)x	0,999	104±9	96±5
Val	0,3	0,8-10	y = (270±10)x	0,996	93±7	101±9
Pro	0,03	0,1-5	y = (1250±70)x	0,999	45±7	42±8
Thr	0,3	0,8-10	y = (320±20)x	0,999	93±10	91±4
Gln	0,8	3-10	y = (230±30)x	0,995	120±8	122±12
Asn	1,0	3-10	y = (62±7)x	0,993	121±2	119±4
Ser	1,0	3-10	y = (26±3)x	0,991	115±4	123±4
Ala	0,08	0,3-5	y = (450±20)x	0,999	90±7	93±2

Таким образом, продемонстрировано, что полученные сорбенты могут быть успешно использованы для определения в различных реальных объектах широкого круга анионов в режиме ИОХ, в том числе и в ИХ с подавлением, и аминокислот в режиме ГИХ. Результаты определения характеризуется правильностью и воспроизводимостью, характерной для ИОХ и ГИХ при использовании коммерческих фаз.

ГЛАВА 6. Сравнение с коммерчески доступными многофункциональными сорбентами

На сегодняшний день представлено небольшое количество коммерчески доступных многофункциональных фаз, пригодных для использования в нескольких режимах жидкостной хроматографии. Больше всего распространены сорбенты на основе силикагеля, возможность применения которых показана только в смешанном режиме, либо в двух режимах: ГИХ и ИОХ, ОФ ВЭЖХ и ИОХ, реже — в трёх режимах: ГИХ, ИОХ и ОФ ВЭЖХ.

Рассмотрим вначале сорбенты, подходящие для работы в смешанном режиме. Колонку Acclaim Trinity P1 (Thermo Scientific, США) можно использовать, например, для одновременного разделения катионов и анионов [127]. Она также позволяет разделить аминометилфосфонат, глюфосинат и глифосат за 6 мин в режиме градиентного элюирования (рис. 67а) [128]. Разделение данных аналитов на разработанной фазе n(B-MAE) осуществляется быстрее, а также она позволяет разделить ещё 4 фосфоновые кислоты. Кроме того, колонку Acclaim Trinity P1 можно использовать лишь в диапазоне pH от 2,5 до 7,5. На колонке на основе силикагеля Primesep SB (SIELC, США) возможно разделение 3 анионов за 7 мин (Cl^- , Br^- , I^-), некоторых витаминов или 3 фосфоновых кислот за 9 мин в смешанном режиме ИОХ/ОФ ВЭЖХ (рис. 67б) [129]. К явным недостаткам данной колонки можно отнести узкий рекомендуемый рабочий диапазон pH — от 2 до 4,5.

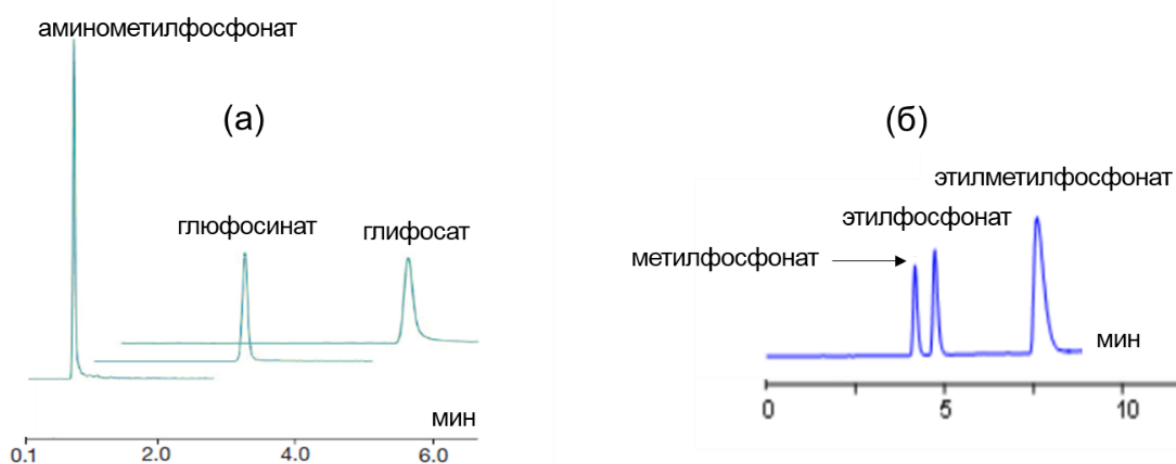


Рис. 67. Хроматограммы фосфоновых кислот на колонках Acclaim Trinity P1 (а) и Primesep SB (б). Элюент: (а) градиент CH_3CN / 100 мМ АФБ / вода; (б) CH_3CN – 50 мМ ААБ, pH 3 (20:80, об.%). Колонки: (а) $100 \times 2,1$ мм; (б) $150 \times 4,6$ мм. Скорость потока: (а) 0,4 мл/мин; (б) 1 мл/мин. Детектирование: МС-детектирование, (б) по светорассеянию [128-129].

Как ранее показано, одним из перспективных способов создания многофункциональных сорбентов является модифицирование альтернативных силикагелю матриц, устойчивых в более широком диапазоне pH: оксидов металлов и полимеров. Так на коммерчески доступной колонке на основе диоксида циркония, покрытого сшитым ПЭИ, ZirChrom-WAX (ZirChrom Separations, США) возможно разделение 4 анионов за 6 мин в режиме ИОХ (рис. 68а), а также — до 5 сахаров за 7 мин в режиме ГИХ (рис. 68б) [130-131]. Использование диоксида циркония в качестве матрицы расширило диапазон стабильности колонки до pH 3-9. Данный сорбент пригоден для работы только в двух режимах, а также значительно уступает по разделяющей способности в режиме ИОХ всем полученным в работе фазам.

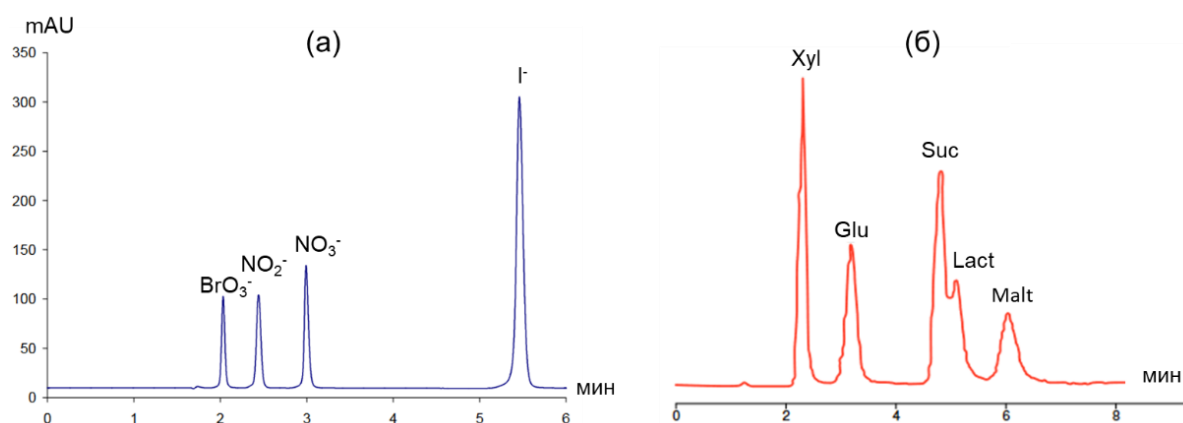


Рис. 68. Разделение анионов в режиме ИОХ (а) и сахаров в режиме ГИХ (б) на многофункциональной колонке ZirChrom-WAX (ZirChrom, США). Элюент: (а) 50 мМ Na₃PO₄ + 75 мМ NaCl, pH 7; (б) CH₃CN – H₂O – CH₃OH (85:13:2, об. %). Колонка: 150 × 4,6 мм. Скорость потока: (а) 1 мл/мин; (б) 2 мл/мин. Детектор: (а) УФ, 240 нм; (б) по светорассеянию [130-131].

Важно подчеркнуть, что за счёт применения в качестве матрицы ПС-ДВБ все полученные в работе гидрофильные фазы возможно использовать в трёх режимах: ГИХ, ОФ ВЭЖХ и ИОХ, включая ИХ с подавлением. Одним из редких примеров коммерчески доступных колонок, подходящих для работы в трёх режимах хроматографии, является Obelisc N (SIELC, США). На рис. 69а представлена хроматограмма разделения 6 азотистых оснований и нуклеозидов за 16 мин, а на рис. 69б — 5 сахаров за 24 мин в режиме ГИХ [132]. Кроме того, колонка позволяет разделить 5 анионов совместно с ионом калия за 7 мин в режиме ИОХ (рис. 69в). Данная колонка также обеспечивает разделение нескольких ароматических кислот в режимах ГИХ и ОФ ВЭЖХ. Однако производитель рекомендует использовать её в диапазоне pH от 2 до 4,5. В то же время разработанная фаза ВРЕI-GI х3 обладает

большой разделяющей способностью в режиме ГИХ, например, обеспечивает разделение 8 азотистых оснований и нуклеозидов за 10 мин (рис. 49б), а из полученного в работе набора сорбентов с привитым ПЭИ, кватернизованным глициолом, можно выбрать многофункциональные колонки под разные аналитические задачи для каждого из трёх хроматографических режимов. Так, высокоёмкостную фазу ВРЕI-GI 24 ч можно рекомендовать для анализа образцов с высоким содержанием матричных компонентов, а фазу с повышенной гидрофильностью ВРЕI-GI 1 — для одновременного определения стандартных неорганических анионов, оксогалогенидов и галогенукусных или фосфоновых кислот в режиме ИХ с подавлением.

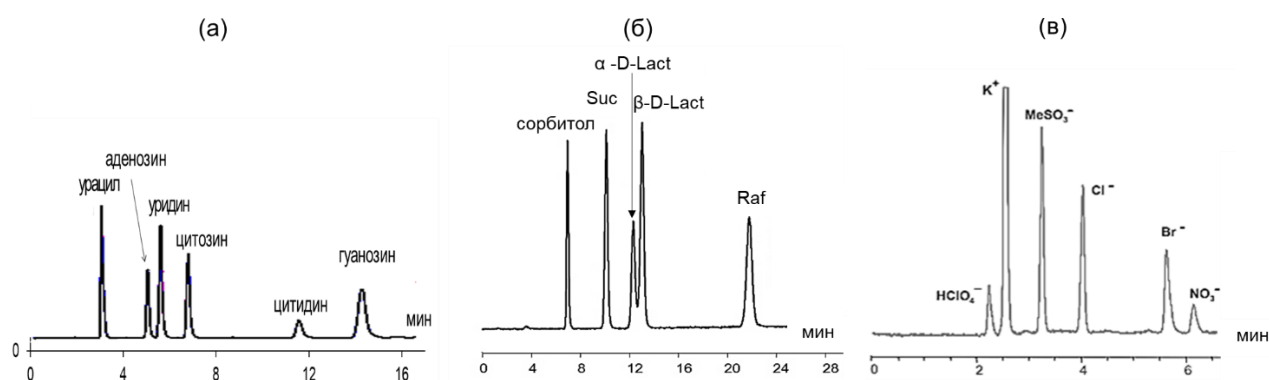


Рис. 69. Разделение азотистых оснований и нуклеозидов (а) и сахаров (б) в режиме ГИХ и ионов в режиме ИОХ (в) на многофункциональной колонке Obelisc N. Элюент: (а) CH_3CN – 10 мМ АФБ, pH 5.0 (90:10, об. %); (б) CH_3CN – H_2O (80:20, об. %); (в) CH_3CN – 40 мМ АФБ, pH 3 (30:70, об. %). Колонка: 150 × 4,6 мм. Скорость потока: 1 мл/мин. Детектор: (а) УФ, 250 нм; (б), (в) по светорассеянию [132].

Вторым примером коммерчески доступной колонки, подходящей для работы в трёх режимах, является Acclaim Mixed-Mode WAX-1 (Thermo Scientific, США). С её помощью возможно разделение кислотных, основных и нейтральных веществ, например, органических кислот, нестероидных противовоспалительных препаратов, аминокислот [133]. На рис. 70 приведено разделение 6 аминокислот за 20 мин в режиме ГИХ. Недостатком данной фазы является узкий (pH 2,5-7,5) диапазон pH для использования ввиду ограниченной гидролитической стабильности матрицы (силикагеля), в то время как полученные в данной работе фазы стабильны во всем диапазоне pH. Более того некоторые из них позволили разделить до 8 аминокислот за 17-22 мин (рис. 35, 49а) и ряд других полярных веществ в режиме ГИХ, а также широкий набор неорганических и органических анионов в ИХ с подавлением и гидрофобных веществ в ОФ режиме.

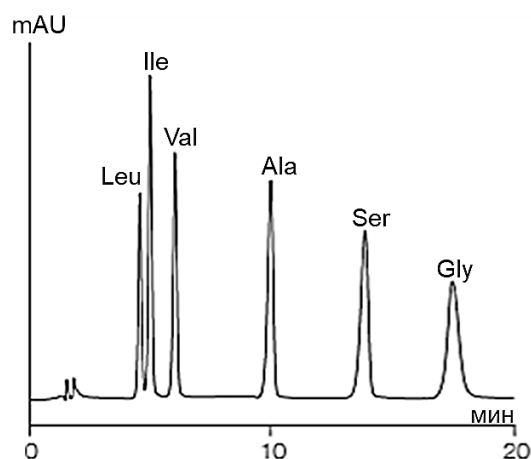


Рис. 70. Разделения смеси аминокислот на колонке Acclaim Mixed-Mode WAX-1. Условия: Элюент: CH_3CN – 25 мМ ФБ, pH 6 (75:25, об. %). Колонка: 150 × 4,6 мм. Скорость потока: 1 мл/мин. Детектор: УФ, 210 нм [133].

Колонка OmniPac PAX-500 (Thermo Scientific, США) на основе гидролитически стабильного ЭВБ-ДВБ — единственная коммерчески доступная многофункциональная колонка, подходящая для работы в режиме ИХ с подавлением [134]. Однако, она подходит только для двух режимов — ИОХ и ОФ ВЭЖХ, а возможность её применения в режиме ГИХ не описана. В режиме ИХ с подавлением в градиентном режиме элюирования с добавкой метанола в элюент на данной фазе возможно разделение 28 анионов за 40 мин (рис. 71а), а в режиме ОФ ВЭЖХ/ИОХ — 3 нейтральных и 10 заряженных аналитов за 28 мин (рис. 71б). Разработанные фазы уступают в разделяющей способности по отношению к анионам и позволяют разделять смеси, содержащие до 21 аниона. Тем не менее, в отличие от данной коммерчески доступной колонки разработанные многофункциональные фазы могут не только разделять большое число анионов, но и подходят для определения широкого круга полярных веществ (~ 40 аналитов) в режиме ГИХ, находящем всё большее применение в настоящее время.

Таким образом, разработанные подходы к синтезу многофункциональных фаз позволили получить целый набор колонок, не уступающих немногочисленным коммерчески доступным фазам. Важно отметить, что в отличие от последних синтезированные сорбенты устойчивы во всём диапазоне pH, а благодаря использованию ПС-ДВБ в качестве матрицы они подходят для ОФ ВЭЖХ. Кроме того, предложенные способы гидрофилизации за счёт прививки гидрофильных полимерных слоёв разной структуры или за счёт модифицирования матрицы приводят к получению селективных сорбентов, подходящих для работы в режимах

ИХ с подавлением и ГИХ, в отличие от большинства известных многофункциональных колонок.

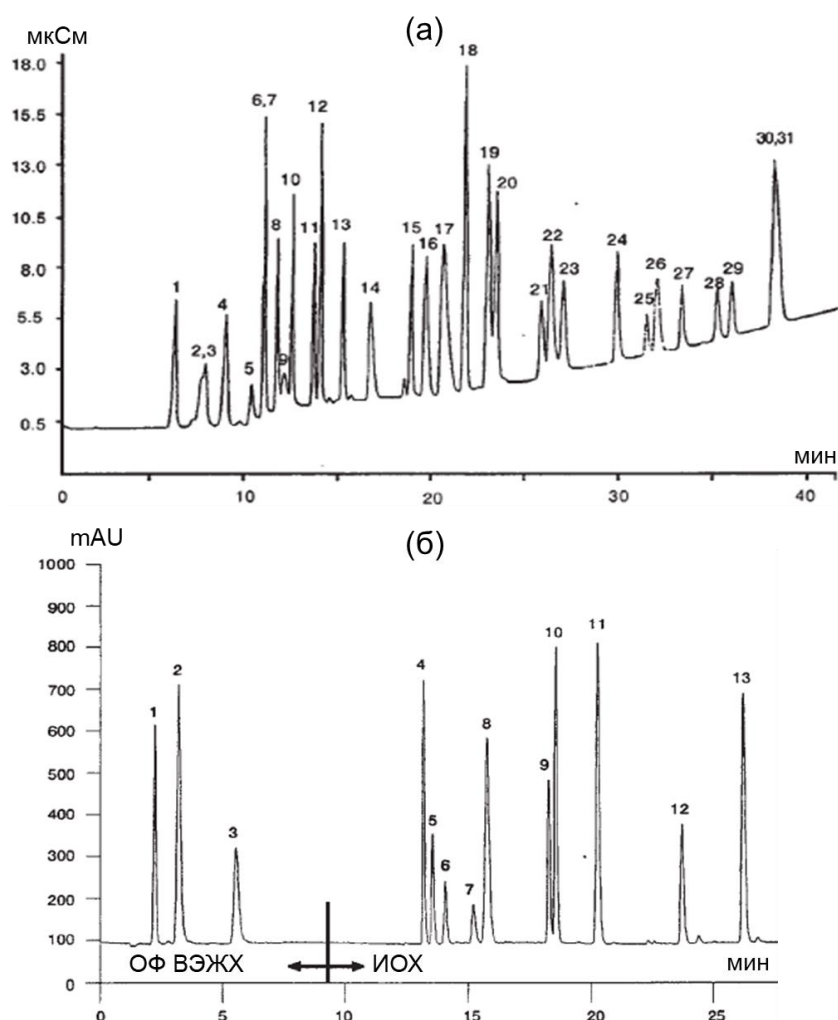


Рис. 71. Разделение модельной смеси анионов в режиме ИХ с подавлением (а) и смеси нейтральных и заряженных веществ в режиме ОФ ВЭЖХ/ИОХ на колонке OmniPac PAX-500. Элюент: градиент 1 мМ NaOH / 200 мМ NaOH / CH₃OH; (б) градиент H₂O / CH₃CN – 4 мМ NaOH + 1 М NaCl. Колонка: 250 × 4 мм. Скорость потока: 1,0 мл/мин. Детектирование кондуктометрическое (а), УФ, 254 нм (б). Аналиты: (а) 1 – фторид, 2 – α-гидроксипутират, 3 – ацетат, 4 гликолят, 5 – глюконат, 6 – α-гидроксивалерат, 7 – формиат, 8 – валерат, 9 – пируват, 10 – монохлорацетат, 11 – бромат, 12 – хлорид, 13 – нитрит, 14 – дихлорацетат, 15 – селенит, 16 – бромид, 17 – нитрат, 18 – сульфат, 19 – оксалат, 20 – селенат, 21 – α-кетоглутарат, 22 – фумарат, 23 – фталат, 24 – оксалоацетат, 25 – фосфат, 26 – арсенат, 27 – хромат, 28 – цитрат, 29 – изоцитрат, 30 – цис-аконитат, 31 – транс-аконитат; (б) 1 – бензиловый спирт, 2 – детиттолуарнид, 3 – бензол, 4 – бензойная кислота, 5 – бензолсульфоокислота, 6 – толуолсульфоокислота, 7 – п-хлорбензолсульфоокислота, 8 – п-бромбензойная кислота, 9 – фталевая кислота, 10 – терефталевая кислота, 11 – п-гидроксibenзолсульфоновая кислота, 12 – 1,3,5-бензентрикарбоновая кислота, 13 – 1,2,4,5 бензентетракарбоновая кислота [134].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований поставленная цель работы достигнута. Основные результаты, полученные в работе, представлены ниже.

В работе предложены новые подходы к синтезу многофункциональных неподвижных фаз на основе полистирол-дивинилбензола с ковалентно закрепленными полимерными слоями: полиэтиленимином, кватернизованным глицидолом, и привитыми полиэлектролитами, сформированными в одну стадию из диэпоксида и вторичных аминов различной структуры. Разработанные многофункциональные сорбенты позволяют работать в трех хроматографических режимах: гидрофильной, обращенно-фазовой и ионообменной хроматографии, в том числе ионной хроматографии с подавлением.

Выбраны пути управления ёмкостью, гидрофильностью, селективностью и разделяющей способностью разработанных сорбентов за счёт варьирования условий синтеза. Например, увеличения гидрофильности и степени экранирования в режиме ионной хроматографии можно достичь за счёт повышения температуры синтеза, а увеличения ёмкости — за счёт повышения количества реагентов в случае фаз с привитыми полиэлектролитами, или глицидола — в случае фаз с привитым полиэтиленимином, кватернизованным глицидолом. Разработанные подходы, приводящие к получению высокоселективных многофункциональных сорбентов, не требуют проведения большого количества стадий, что является их несомненным преимуществом.

Предложенный способ модифицирования полистирол-дивинилбензола для получения многофункциональных сорбентов за счёт окисления двойных связей на ее поверхности привел к увеличению гидрофильности функционального слоя и степени экранирования матрицы. Данный подход позволил существенно снизить удерживание оксогалогенидов, галогенуксусных кислот и поляризуемых анионов в режиме ионной хроматографии, в гидрофильном режиме — к росту удерживания полярных веществ, а в обращенно-фазовом режиме — к снижению удерживания гидрофобных алкилбензолов.

Показана возможность разделения многокомпонентных смесей анионов в режиме ионной хроматографии с подавлением, включая неорганические, в том числе сильнополяризуемые анионы, и анионы органических кислот, в том числе

алкилфосфоновых или галогенуксусных кислот, смесей аминокислот, азотистых оснований и нуклеозидов, водорастворимых витаминов и сахаров в режиме гидрофильной хроматографии, а также алкилбензолов в обращенно-фазовом режиме.

В работе продемонстрированы преимущества полученных многофункциональных сорбентов как для анализа относительно простых объектов, например, питьевых вод, так и при анализе более сложных: экстрактов почв, морских вод и фармацевтических препаратов.

ВЫВОДЫ

1. Разработаны подходы к получению многофункциональных сорбентов разной гидрофильности на основе полистирол-дивинилбензола с ковалентно закрепленным полиэтиленимином, кватернизованным глицидолом, а также с привитыми полиэлектролитами, сформированными *in situ* из диэпоксида и вторичных аминов различной структуры.

2. Установлено, что увеличение количества реагентов при синтезе сорбентов с привитыми полиэлектролитами позволяет повысить их ёмкость и разделяющую способность, в то время как повышение температуры и длительности синтеза приводит к их снижению. Продемонстрировано, что сочетание покрытия поверхности гидрофобной матрицы слоем полиамина и прививки полиэлектролитов обеспечивает её наилучшее экранирование и максимальную гидрофилизацию, кроме того, перспективным с точки зрения гидрофилизации является использование гидрофильного амина, а также повышение температуры синтеза до 80°C.

3. Выявлены пути повышения гидрофильности, эффективности и ёмкости сорбентов с привитым полиэтиленимином, кватернизованным глицидолом, за счёт увеличения количества глицидола, продолжительности синтеза до 10 часов, температуры реакционной среды до 80°C. Предложен способ получения многофункциональных гидрофильных сорбентов за счёт полимеризации глицидола в функциональном слое в щелочной среде. В режиме ионной хроматографии максимальной степени экранирования и гидрофилизации сорбента можно достичь путем кватернизации глицидолом с последующей его полимеризацией в ионообменных центрах, при этом в гидрофильном режиме данный подход позволяет повысить только степень экранирования матрицы.

4. Предложены условия модифицирования полистирол-дивинилбензола для получения многофункциональных неподвижных фаз за счёт окисления двойных связей на его поверхности с целью повышения степени гидрофилизации и экранирования матрицы. Продемонстрировано снижение удерживания оксогалогенидов, галогенуксусных кислот и поляризуемых анионов в режиме ионной хроматографии, увеличение удерживания полярных аналитов в режиме гидрофильной хроматографии, вплоть до изменения порядка элюирования в обоих

режимах, а также снижение удерживания алкилбензолов в обращенно-фазовом режиме.

5. Впервые продемонстрирована возможность одновременного определения стандартных анионов, оксогалогенидов и анионов алкилфосфоновых или галогенуксусных кислот на ковалентно привитых анионообменниках на основе полистирол-дивинилбензола.

6. Получены сорбенты, обладающие высокой селективностью и обеспечивающие разделение до 21 аниона в режиме ионной хроматографии, 7 алкилбензолов в обращенно-фазовом режиме, а также 8 аминокислот, 6 витаминов, 8 сахаров и 10 азотистых оснований и нуклеозидов в гидрофильном режиме.

7. Показана высокая гидрофильность полученных сорбентов как в режиме ионообменной, так и гидрофильной хроматографии, а также их преимущества при анализе объектов со сложными матрицами: морских вод и почвенных экстрактов методами ионообменной и гидрофильной хроматографии.

Таким образом, показано, что подходы к синтезу сорбентов на основе сополимера стирола и дивинилбензола за счёт прививки полиэлектролитов или полиэтиленimina, кватернизованного глицидом, а также совмещение этих подходов — перспективные способы получения многофункциональных фаз, а эпексидирование матрицы позволяет существенно повысить гидрофильность и степень экранирования сорбентов. Кроме того, для каждого типа сорбентов выявлены пути повышения ёмкости, гидрофильности и селективности для определения широкого круга аналитов в режимах ионной и гидрофильной хроматографии.

Список литературы

1. *Lemasson E., Bertin S., Hennig P., Lesellier E., West C.* Mixed-Mode Chromatography—A Review // *LC GC Eur.* 2017. V. 30. P. 22–33.
2. *Wan Q.-H.* «Mixed-Mode Chromatography Principles, Methods, and Applications». 1 ed. Singapore Springer. 2021. 482 p.
3. *Zatirakha A.V., Smolenkov A.D., Shpigun O.A.* Preparation and chromatographic performance of polymer-based anion exchangers for ion chromatography: A review // *Anal. Chim. Acta.* 2016. V. 904. P. 33–50.
4. *Liu X., Wang Y., Cong H., Shen Y., Yu B.* A review of the design of packing materials for ion chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1653. Article 462313.
5. *Sýkora D., Řezanka P., Záruba K., Král V.* Recent advances in mixed-mode chromatographic stationary phases // *J. Sep. Sci.* 2019. V. 42. P. 89–129.
6. *Wahab M.F., Ibrahim M.E.A., Lucy C.A.* Carboxylate modified porous graphitic carbon: A new class of hydrophilic interaction liquid chromatography phases // *Anal Chem.* 2013. V. 85. P. 5684–5691.
7. *Weiss J.* «Handbook of ion chromatography». 4 ed. Weinheim. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2016. 1576 p.
8. *Blackwell J.A., Carr P.W.* Fluoride-modified zirconium oxide as a biocompatible stationary phase for high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 1991. V. 549. P. 59–75.
9. *Hu Y., Yang X., Carr P.W.* Mixed-mode reversed-phase and ion-exchange separations of cationic analytes on polybutadiene-coated zirconia // *J. Chromatogr. A.* 2002. V. 968. P. 17–29.
10. *Гончарова Е.Н., Статкус М.А., Цизин Г.И., Золотов Ю.А.* Пористый графитированный углерод для разделения и концентрирования гидрофильных веществ // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. С. 291–315.
11. *Pohl C.* Stationary phases in ion chromatography / *Ion Chromatography: Instrumentation, Techniques and Applications.* Academic Press, 2021. Ch. 3. P. 43–156.
12. *Liu J., Sun Y., Wang C., Hu K., Jia C., Wang G., Sun Y., Zhang S., Zhu Y.* Fabrication of monodisperse poly (allyl glycidyl ether-co-divinyl benzene) microspheres and their

- application in anion-exchange stationary phase // *J. Chromatogr. A.* 2019. V. 1595. P. 91–96.
13. *Liang C., Lucy C.A.* Characterization of ion chromatography columns based on hydrophobicity and hydroxide eluent strength // *J. Chromatogr. A.* 2010. V. 1217. P. 8154–8160.
 14. *Bruzzoniti M.C., Mentasti E., Pohl C.A., Riviello J.M., Sarzanini C.* Effect of ion-exchange site and eluent modifiers on the anion-exchange of carboxylic acids // *J. Chromatogr. A.* 2001. V. 925. P. 99–108.
 15. *Pohl C.A., Stillian J.R., Jackson P.E.* Factors controlling ion-exchange selectivity in suppressed ion chromatography // *J. Chromatogr. A.* 1997. V. 789. P. 29–41.
 16. *Zatirakha A.V., Smolenkov A.D., Pirogov A.V., Nesterenko P.N., Shpigun O.A.* Preparation and characterisation of anion exchangers with dihydroxy-containing alkyl substitutes in the quaternary ammonium functional groups // *J. Chromatogr. A.* 2014. V. 1323. P. 104–114.
 17. *Затираха А.В., Ужель А.С., Смоленков А.Д., Шпигун О.А.* Методы получения высокоэффективных неподвижных фаз для анионообменной хроматографии // *Вестн. Моск. Ун-Та. Сер.2. Химия.* 2018. Т. 59. С. 3–19.
 18. *Davankov V., Pavlova L., Tsyurupa M., Brady J., Balsamo M., Yousha E.* Polymeric adsorbent for removing toxic proteins from blood of patients with kidney failure // *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 2000. V. 739. P. 73–80.
 19. *Zhang K., Lou C., Zhu Y., Zhi M., Zeng X.* Hyperbranched anion exchangers prepared from thiol-ene modified polymeric substrates for suppressed ion chromatography // *Talanta.* 2018. V. 184. P. 491–498.
 20. *Карцова Л.А., Бессонова Е.А., Сомова В.Д.* Гидрофильная хроматография // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 74. С. 323-334.
 21. *Zhang K., Liu X.* Mixed-mode chromatography in pharmaceutical and biopharmaceutical applications // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2016. V. 128. P. 73–88.
 22. *Zhang L., Dai Q., Qiao X., Yu C., Qin X., Yan H.* Mixed-mode chromatographic stationary phases: Recent advancements and its applications for high-performance liquid chromatography // *Tr. Anal. Chem.* 2016. V. 82. P. 143–163.

23. Wang L., Wei W., Xia Z., Jie X., Xia Z.Z. Recent advances in materials for stationary phases of mixed-mode high-performance liquid chromatography // Tr. Anal. Chem. 2016. V. 80. P. 495–506.
24. Ohyama K., Takasago S., Kishikawa N., Kuroda N. Poly(L-lactic acid)-modified silica stationary phase for reversed-phase and hydrophilic interaction liquid chromatography // 2015. J. Sep. Sci. V. 38. P. 720–723.
25. Qiao X., Zhang L., Zhang N., Wang X., Qin X., Yan H., Liu H. Imidazolium embedded C8 based stationary phase for simultaneous reversed-phase/hydrophilic interaction mixed-mode chromatography // J. Chromatogr. A. 2015. V. 1400. P. 107–116.
26. Liu M., Jing Y., Zhang L., Zhou Y., Yan H., Song Y., Qiao X. MOF-74@SiO₂ core-shell stationary phase: Preparation and its applications for mixed-mode chromatographic separation // J. Chromatogr. B. 2021. V. 1163. Article 122506.
27. Si T., Lu X., Zhang H., Liang X., Wang S., Guo Y. A new strategy for the preparation of core-shell MOF/Polymer composite material as the mixed-mode stationary phase for hydrophilic interaction/ reversed-phase chromatography // Anal. Chim. Acta. 2021. V. 1143. P. 181–188.
28. Si T., Wang L., Zhang H., Liang X., Lu X., Wang S., Guo Y. A novel approach for the preparation of core-shell MOF/polymer composites as mixed-mode stationary phase // Talanta. 2021. V. 232. Article 122459.
29. Fan F., Pan J., Li Y., Wang L., Wang S., Liang X., Guo Y. A novel double polymer modified hydrophobic/hydrophilic stationary phase for liquid chromatography // Chin. Chem. Lett. 2020. V. 31. P. 746–750.
30. Guo Z., Jin Y., Liang T., Liu Y., Xu Q., Liang X., Lei A. Synthesis, chromatographic evaluation and hydrophilic interaction/reversed-phase mixed-mode behavior of a “Click β -cyclodextrin” stationary phase // J. Chromatogr. A. 2009. V. 1216. P. 257–263.
31. Fan C., Liu B., Li H., Quan K., Chen J., Qiu H. N-Vinyl pyrrolidone and undecylenic acid copolymerized on silica surface as mixed-mode stationary phases for reversed-phase and hydrophilic interaction chromatography // J. Chromatogr. A. 2021. V. 1655. Article 462534.
32. Wu Q., Hou X., Lv H., Li H., Zhao L., Qiu H. Synthesis of octadecylamine-derived carbon dots and application in reversed phase/hydrophilic interaction liquid chromatography // J. Chromatogr. A. 2021. V. 1656. Article 462548.

33. *Fu G., Gao C., Quan K., Li H., Qiu H., Chen J.* Phosphorus-doped deep eutectic solvent-derived carbon dots-modified silica as a mixed-mode stationary phase for reversed-phase and hydrophilic interaction chromatography // *Anal. Bioanal. Chem.* 2022. V. 415. P. 4255–4264
34. *Sun H.F., Cui Y.Y., Zhen C.Q., Yang C.X.* Monomer-mediated fabrication of microporous organic network@silica microsphere for reversed-phase/hydrophilic interaction mixed-mode chromatography // *Talanta.* 2023. V. 251. Article 123763.
35. *Zhou T., Lucy C.A.* Hydrophilic interaction chromatography of nucleotides and their pathway intermediates on titania // *J. Chromatogr. A.* 2008. V. 1187. P. 87–93.
36. *Ibrahim M.E.A., Wahab M.F., Lucy C.A.* Hybrid carbon nanoparticles modified core-shell silica: A high efficiency carbon-based phase for hydrophilic interaction liquid chromatography, *Anal. Chim. Acta.* 2014. V. 820. P. 187–194.
37. *Yu B., Xu T., Cong H., Peng Q., Usman M.* Preparation of porous poly(styrene-divinylbenzene) microspheres and their modification with diazoresin for mix-mode HPLC separations // *Materials.* 2017. V. 10. Article 440.
38. *Yu B., Zhang H., Cong H., Gu C., Gao L., Yang B., Usman M.* Diazoresin modified monodisperse porous poly(glycidylmethacrylate-co-divinylbenzene) microspheres as the stationary phase for high performance liquid chromatography // *New J. Chem.* 2017. V. 41. P. 4637–4643.
39. *Cong H., Yu B., Tian C., Zhang S., Yuan H.* Synthesis of monodisperse silica microspheres and modification with diazoresin for mixed-mode ultra high performance liquid chromatography separations // *J. Sep. Sci.* 2017. V. 40. P. 4320–4328.
40. *Chambers T.K., Fritz J.S.* Effect of polystyrene-divinylbenzene resin sulfonation on solute retention in high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 1998. V. 797. P. 139–147.
41. *Чикурова Н.Ю., Просунцова Д.С., Ставрианиди А.Н., Староверов С.М., Ананьева И.А., Смоленков А.Д., Чернобровкина А.В.* Новые многофункциональные сорбенты для ВЭЖХ на основе различных матриц, модифицированных эремоницином // *Журн. аналит. химии.* 2023. Т. 78. С. 438–450.
42. *Kawachi Y., Ikegami T., Takubo H., Ikegami Y., Miyamoto M., Tanaka N.* Chromatographic characterization of hydrophilic interaction liquid chromatography

- stationary phases: Hydrophilicity, charge effects, structural selectivity, and separation efficiency // *J. Chromatogr. A*. 2011. V. 1218. P. 5903–5919.
43. *Popov A.S., Spiridonov K.A., Uzhel A.S., Smolenkov A.D., Chernobrovkina A.V., Zatirakha, A.V.* Prospects of using hyperbranched stationary phase based on poly(styrene-divinylbenzene) in mixed-mode chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2021. V. 1642. Article 462010.
 44. *Schmitt M., Egorycheva M., Frerichs D., Fiedler S., Graumann P., Seubert A.* Factors affecting mixed-mode retention properties of cation-exchange stationary phases // *J. Chromatogr. A*. 2023. V. 1695. Article 463934.
 45. *Shi J., Zhang L., Huo Z., Chen L.* High stability amino-derived reversed-phase/anion-exchange mixed-mode phase based on polysilsesquioxane microspheres for simultaneous separation of compound drugs // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2021. V. 203. Article 114187.
 46. *Huang Z., Yao P., Zhu Q., Wang L., Zhu Y.* The polystyrene-divinylbenzene stationary phase hybridized with oxidized nanodiamonds for liquid chromatography // *Talanta*. 2018. V. 185. P. 221–228.
 47. *Чернобровкина А.В., Смоленков А.Д., Шпигун О.А.* Гидрофильная хроматография - перспективный метод определения полярных веществ // *Лаборатория и производство*. 2018. Т. 4. С. 76-92.
 48. *Wang X., Bo C., Wang C., Wei Y.* Controllable preparation of a hydrophilic/ion-exchange mixed-mode stationary phase by surface-initiated atom transfer radical polymerization using a mixture of two functional monomers // *J. Sep. Sci.* 2017. V. 40. P. 1861–1868.
 49. *Bo C., Wang X., Wang C., Wei Y.* Preparation of hydrophilic interaction/ion-exchange mixed-mode chromatographic stationary phase with adjustable selectivity by controlling different ratios of the co-monomers // *J. Chromatogr. A*. 2017. V. 1487 P. 201–210.
 50. *Bo C., Wei Y.* Preparation and evaluation of surface-grafted block copolymers and random copolymers: Via surface-initiated atom transfer radical polymerization for hydrophilic/ion-exchange stationary phases, *RSC Adv.* 2017. V. 7. P. 46812–46822.
 51. *Qiao L., Wang S., Li H., Shan Y., Dou A., Shi X., Xu G.* A novel surface-confined glucaminium-based ionic liquid stationary phase for hydrophilic interaction/anion-

- exchange mixed-mode chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2014. V. 1360. P. 240–247.
52. Peng Y., Hou Y., Zhang F., Shen G., Yang B. A hyperbranched polyethylenimine functionalized stationary phase for hydrophilic interaction liquid chromatography // *Anal. Bioanal. Chem.* 2016. V. 408. P. 3633–3638.
53. Hou Y., Zhang F., Liang X., Yang B., Liu X., Dasgupta P.K. Poly(vinyl alcohol) Modified Porous Graphitic Carbon Stationary Phase for Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography // *Anal Chem.* 2016. V. 88. P. 4676–4681.
54. Kurokawa Y., Maekawa A., Takahashi M., Hayashi Y. Toxicity and Carcinogenicity of Potassium Bromate: A New Renal Carcinogen // *Environ. Health Perspect.* 1990. V. 87. P. 309.
55. Bäurer S., Zimmermann A., Woiwode U., Sánchez-Muñoz O.L., Kramer M., Horak J., Lindner W., Bicker W., Lämmerhofer M. Stable-bond polymeric reversed-phase/weak anion-exchange mixed-mode stationary phases obtained by simultaneous functionalization and crosslinking of a poly(3-mercaptopropyl)methylsiloxane-film on vinyl silica via thiol-ene double click reaction // *J. Chromatogr. A*. 2019. V. 1593. P. 110–118.
56. Ren X., Zhang K., Gao D., Fu Q., Zeng J., Zhou D., Wang L., Xia Z. Mixed-mode liquid chromatography with a stationary phase co-functionalized with ionic liquid embedded C18 and an aryl sulfonate group // *J. Chromatogr. A*. 2018. V. 1564. P. 137–144.
57. Hosseini E.S., K. Tabar-Heydar. Preparation and evaluation a mixed-mode stationary phase with C18 and 2-methylindole for HPLC // *Biomed. Chromatogr.* 2021. V. 35. Article e5068.
58. Zhang S., Wan Q.H., Li Y. Epoxide-derived mixed-mode chromatographic stationary phases for separation of active substances in fixed-dose combination drugs // *J. Sep. Sci.* 2019. V.42. P. 2796–2804.
59. Fan F., Liang X., Wang S., Wang L., Guo Y. A facile process for the preparation of organic gel-assisted silica microsphere material for multi-mode liquid chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2020. V. 1628. Article 461472.

60. *Li S., Li Y., Fan X., Ma Y., Ji W., Li D., Sun Y.* Dendritic organic molecular gel coating with molecular shape selectivity and its application in selective separation by liquid chromatography // *Anal. Bioanal. Chem.* 2022. V. 414. P. 8263–8276.
61. *Chen J., Peng H., Zhang Z., Zhang Z., Ni R., Chen Y., Chen P., Peng J.* Facile fabrication of silica@covalent organic polymers core-shell composites as the mixed-mode stationary phase for hydrophilic interaction/reversed-phase/ion-exchange chromatography // *Talanta.* 2021. V. 233. Article 122524.
62. *Schmitt M., Fillsack F., Seubert A.* A simple ion chromatography-mass spectrometry method for amino acid analysis in beer // *J. Sep. Sci.* 2023. V. 46. Article 2300106.
63. *Schmitt M., Egorycheva M., Seubert A.* Mixed-acidic cation-exchange material for the separation of underivatized amino acids // *J. Chromatogr. A.* 2022. V. 1664. Article 462790.
64. *Seubert A., Tripp J.S., Aeschlimann R., Ott M., Brand B.* Method for producing a hydrophilic surface on PS/DVB copolymer particles // *US Patent №2022/0204712 A1.* 2022.
65. *Hou Y., Zhang F., Liu X., Ren Y., Yang B.* A positively charged porous graphitic carbon stationary phase for hydrophilic interaction liquid chromatography // *Talanta.* 2017. V. 164. P. 159–163.
66. *Shen Y., Geng H., Zhang F., Li Z., Yang B.* A polyethyleneimine-functionalized polymer substrate polar stationary phase // *J. Chromatogr. A.* 2023. V. 1689. Article 463711.
67. *Uzhel A.S., Gorbovsckaya A.V., Zatirakha A.V., Smolenkov A.D., Shpigun O.A.* Manipulating selectivity of covalently-bonded hyperbranched anion exchangers toward organic acids. Part I: Influence of primary amine substituents in the internal part of the functional layer // *J. Chromatogr. A.* 2019. V. 1589. P. 65–72.
68. *Nesterenko P.N., Nesterenko E.P.* Hydrophobicity of polymer based anion-exchange columns for ion chromatography // *Heliyon.* 2021. V. 7. Article e07290.
69. *Uzhel A.S., Zatirakha A.V., Shchukina O.I., Smolenkov A.D., Shpigun O.A.* Covalently-bonded hyperbranchedpoly(styrene-divinylbenzene)-based anion exchangers for ion chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2016. V. 1470. P. 97-103.
70. *Pohl C.A., Srinivasan K.* Electrostatically attached highly branched anion-exchange phases derived from diamines and diepoxides // *Talanta.* 2018. V. 184. P. 338-346.

71. *Zatirakha A., Pohl C.A.* Hybrid grafted and hyperbranched anion exchangers for ion chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2023. Article 464218.
72. *Pohl C., Saini C.* New developments in the preparation of anion exchange media based on hyperbranched condensation polymers // *J. Chromatogr. A.* 2008. V. 1213. P. 37-44.
73. *Pohl C.A.* Novel method for manipulation of anion-exchange selectivity by derivatizing hydroxyl groups in the proximity of quaternary nitrogen ion-exchange sites with glycidol // *Talanta.* 2018. V. 177. P. 18–25.
74. *Pohl C.A.* Recent Developments in Ion-Exchange Columns for Ion Chromatography // *LC-GC Europe.* 2013. V. 31. P. 16-22.
75. *Shchukina O.I., Zatirakha A.V., Smolenkov A.D., Nesterenko P.N., Shpigun O.A.* Novel anion exchangers with branched functional ion exchange layers of different hydrophilicity for ion chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2015. V. 1408. P. 78-86.
76. *Liu J., Wang Y., Cheng H., Wang N., Wu S., Zhang P., Zhu Y.* High-capacity anion exchangers based on poly (glycidylmethacrylate-divinylbenzene) microspheres for ion chromatography // *Talanta.* 2016. V. 159. P. 272-279.
77. *Затираха А.В., Смоленков А.Д., Шпигун О.А.* Синтез новых полимерных анионообменников с использованием реакции нитрования // *Сорбцион. и хроматогр. процессы.* 2011. Т. 11. С. 473-481.
78. *Shchukina O.I., Zatirakha A.V., Smolenkov A.D., Nesterenko P.N., Shpigun O.A.* Novel anion exchangers with spatially distant trimethylammonium groups in linear and branched hydrophilic functional layers // *Chromatographia.* 2015. V. 78. P. 147-155.
79. *Huang Z., Zhuge C., Zhu Q., Liu H., She Y., Zhu Y.* The polystyrene-divinylbenzene stationary phase modified with poly (Amine-Epichlorohydrin) for ion chromatography // *Microchem. J.* 2020. V. 155. Article 104702.
80. *Stillian J.R., Pohl C.A.* New latex-bonded pellicular anion exchangers with multi-phase selectivity for high-performance chromatographic separations. // *J. Chromatogr.* 1990. V. 499. P. 249-266.
81. *Small H., Stevens T.S., Bauman W.C.* Novel ion-exchange chromatographic method using conductometric detection // *Anal. Chem.* 1975. V. 47. P. 1801-1809.

82. *Pohl C.A.* Recent developments in ion-exchange columns for inorganic ions and low molecular weight ionizable molecules // *LCGC North America*. 2006. V. 24. P. 32-37.
83. *Zhao Q., Miao X., Yu J., Zhu Y.* Covalent hyperbranched porous carbon nanospheres as a polymeric stationary phase for ion chromatography // *Microchim. Acta*. 2019. V. 186. Article 139.
84. *Li Y., Liu S., Zhang Q., Gong W., Yin H., Yang. B., Qin L., Zhao Q., Zhu Y.* Sustainable hydrophilic ultrasmall carbonaceous spheres modified by click reaction for high-performance polymeric ion chromatographic stationary phase // *J. Chromatogr. A*. 2022. V. 1663. P. 462762.
85. *Yu X., Lei X., Zhu Y., Zhao Q.* Dendrimer-functionalized hydrothermal nanosized carbonaceous spheres as superior anion exchangers for ion chromatographic separation // *Microchim. Acta*. 2022. V. 189. Article 239.
86. *Wahab M. F., Pohl C. A., Lucy C. A.* Ion chromatography on carbon clad zirconia modified by diazonium chemistry and functionalized latex particles // *Analyst*. 2011. V. 136. № 15. P. 3113—3120.
87. *Yao P., Huang Z., Zhu Q., Zhu Z., Wang L., Zhu Y.* A novel composite stationary phase composed of polystyrene/divinybenzene beads and quaternized nanodiamond for anion exchange chromatography. // *Chin. Chem. Lett.* 2019. V. 30. P. 465–469.
88. *Liu J., Zhang M., Mao J., Sun Y., Zhang S., Zhu Y. Guo Y. Zhang J.* Preparation and characterization of graphitic carbon-nitride nanosheets agglomerated poly (styrene-divinylbenzene) anion-exchange stationary phase for ion chromatography // *Microchem. J.* 2021. V. 164. Article 106023.
89. *Huang Z., Wu H., Wang F., Yan W., Guo W., Zhu Y.* Polystyrene-divinylbenzene stationary phases agglomerated with quaternized multi-walled carbon nanotubes for anion exchange chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2013. V. 1294. P. 152-156.
90. *Raskop M.P., Grimm A., Seubert A.* Polystyrene immobilized ionenes as novel stationary phase for ion chromatography // *Microchim. Acta*. 2007. V. 158. P. 85–94.
91. *Pirogov A.V., Platonov M.M., Shpigun O.A.* Polyelectrolyte sorbents based on aliphatic ionenes for ion chromatography // *J. Chromatogr. A*. 1999. V. 850. P. 53–63.
92. *Пирогов А.В.* Полиэлектrolитные сорбенты для ионной хроматографии // *Журн. аналит. химии*. 2000. Т. 55. С. 1285–1291.

93. *Иванайнен Е.В., Пирогов А.В., Шпигун О.А.* Оптимизация условий эксплуатации полиэлектролитных сорбентов // Вестн. Моск. Ун-Та. Сер.2. Химия. 2009. Т. 50. С. 245–251.
94. *Bocian S., Studzińska S., Buszewski B.* Functionalized anion exchange stationary phase for separation of anionic compounds // *Talanta*. 2014. V. 12.7 P. 133–139.
95. *Buszewski B., Jaćkowska M., Bocian S., Kosobucki P., Gawdzik B.* Functionalized polymeric stationary phases for ion chromatography // *J. Sep. Sci.* 2011. V. 34. P. 601–608.
96. *Zhao Q., Wu S., Zhang P., Zhu Y.* Hydrothermal carbonaceous sphere based stationary phase for anion exchange chromatography. // *Talanta*. 2017. V. 163. P. 24–30.
97. *Huang Z., Zhu Z., Subhani Q., Yan W., Guo W., Zhu Y.* Simultaneous determination of iodide and iodate in povidone iodine solution by ion chromatography with homemade and exchange capacity controllable columns and column-switching technique // *J. Chromatogr. A*. 2012. V. 1251. P. 154–159.
98. *Uzhel A.S., Zahirakha A.V., Smirnov K.N., Smolenkov A.D., Shpigun O.A.* Anion exchangers with negatively charged functionalities in hyperbranched ion-exchange layers for ion chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2017. V. 1482. P. 57–64.
99. *Chen D., Shi F., Zhou Y., Xu W., Shen H., Zhu Y.* Hyperbranched anion exchangers prepared from polyethylene polyamine modified polymeric substrates for ion chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2021. V. 1655. Article 462508.
100. *Kaltz A., Bohra L., Tripp J.S., Seubert A.* Investigations on the selectivity of grafted high performance anion exchangers and the underlying graft mechanism // *Anal. Chim. Acta*. 2018. V. 999. P. 176–183.
101. *Kaltz A., Bohra L., Tripp J.S., Seubert A.* Influencing the selectivity of grafted anion exchangers utilizing the solubility of the radical initiator during the graft process // *Anal. Chim. Acta*. X. 2019. V. 2. Article 100019.
102. *Z. Yang, M. Gao, Z. Li, F. Zhang, S. Zhang, B. Yang.* A poly(glycidylmethacrylate-divinylbenzene)-based anion exchanger for ion chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2019. V. 1596. P. 79–83.
103. *Li Z., Chen X., Zhang F., Yang B.* A strong anion exchanger of poly(glycidylmethacrylate-divinylbenzene) substrate functionalized with cationic quaternary ammonium monomer // *J. Sep. Sci.* 2022. V. 45. P. 3995–4000.

104. *Shchukina O.I., Zatirakha A.V., Uzhel A.S., Smolenkov A.D., Shpigun O.A.* Novel polymer-based anion-exchangers with covalently-bonded functional layers of quaternized polyethyleneimine for ion chromatography // *Anal. Chim. Acta.* 2017. V. 964. P. 187–194.
105. *Yang Z., Li Z., Zhang F., Yang B., Zhang S.* A novel hydrophilic polymer-based anion exchanger grafted by quaternized polyethyleneimine for ion chromatography // *Talanta.* 2019. V. 197. P. 199–203.
106. *Zhang K., Lou C., Zhu Y., Zhi M., Zeng X., Shou D.* Covalently grafted anion exchangers with linear epoxy-amine functionalities for high-performance ion chromatography // *Talanta.* 2019. V. 194. P. 485–492.
107. *Zhang K., Zhao Y., Ye M., Lou C., Zhu Y.* Polyelectrolyte-grafted anion exchangers with hydrophilic intermediate layers for ion chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2022. V. 1682. Article 463498.
108. *Abbina S., Vappala S., Kumar P., Siren E.M.J., La C.C., Abbasi U., Brooks D.E., Kizhakkedathu J.N.* Hyperbranched polyglycerols: recent advances in synthesis, biocompatibility and biomedical applications // *J. Mater. Chem B.* 2017. V. 5. P. 9249–9277.
109. *Khan M., Huck W.T.S.* Hyperbranched polyglycidol on Si/SiO₂ surfaces via surface-initiated polymerization // *Macromolecules.* 2003. V. 36. P. 5088–5093.
110. *Daniel W., Stiriba S.E., Holger F.* Hyperbranched polyglycerols: From the controlled synthesis of biocompatible polyether polyols to multipurpose applications // *Acc. Chem. Res.* 2010. V. 43. P. 129–141.
111. *Ardila-Suárez C., Rojas-Avellaneda D., Ramirez-Caballero G.E.* Effect of Temperature and Catalyst Concentration on Polyglycerol during Synthesis // *Int. J. Polym. Sci.* 2015. V. 2015. Article 910249.
112. *Li H., Zhang X., Zhang L., Cang H., Kong F., Fan D., Wang W.* Hyperbranched polyglycerol functionalized silica stationary phase for hydrophilic interaction liquid chromatography // *Anal. Sci.* 2018. V. 34. P. 433–438.
113. *Geng H., Jing J., Zhang F., Zhang F., Yang B.* A polar stationary phase obtained by surface-initiated polymerization of hyperbranched polyglycerol onto silica // *Talanta.* 2020. V. 209. Article 120525.

114. *Geng H., Wang Z., Zhang F., Li Z., Yang B.* A hyperbranched polyglycerol-functionalized polymer polar stationary phase // *J. Chromatogr. A.* 2022. V. 1670. Article 462946.
115. *Hubbard K.L., Finch J.A., Darling G.D.* Epoxidation of the pendant vinylbenzene groups of commercial poly(divinylbenzene-co-ethylvinylbenzene) // *React. Funct. Polym.* 1999. V. 42. P. 279–289.
116. *Pandit R., Michler G.H., Lach R., Grellmann W., Saiter J.M., Berkessel A., Adhikari R.* Epoxidation of Styrene/Butadiene Star Block Copolymer by Different Methods and Characterization of the Blends with Epoxy Resin // *Macromol. Symp.* 2014. V. 341. P. 67–74.
117. *Matic A., Hess A., Schanzenbach D., Schlaad H.* Epoxidized 1,4-polymyrcene // *Polym. Chem.* 2020. V. 11. P. 1364–1368.
118. *Чукурова Н.Ю., Горбовская А.В., Ставрианиди А.Н., Фёдорова Е.С., Шемякина А.О., Буряк А.К., Ужель А.С., Чернобровкина А.В., Шпигун О.А.* Новые сорбенты для определения аминокислот в почвенных экстрактах методом гидрофильной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием // *Журн. аналит. химии.* 2023. Т. 78. С. 637-647.
119. *Попов А.С.* Новые неподвижные фазы на основе различных матриц для гидрофильной хроматографии, Дисс. ... канд. хим. наук. 2022.
120. *Ibrahim M.E.A., Liu Y., Lucy C.A.* A simple graphical representation of selectivity in hydrophilic interaction liquid chromatography, *J. Chromatogr. A.* 2012. V. 1260. P. 126–131.
121. *Fu X., Cebo M., Ikegami T., Lämmerhofer M.* Separation of carbohydrate isomers and anomers on poly-N-(1H-tetrazole-5-yl)-methacrylamide-bonded stationary phase by hydrophilic interaction chromatography as well as determination of anomer interconversion energy barriers // *J. Chromatogr. A.* 2020. V. 1620. Article 460981.
122. *Slingsby R., Saini C., Pohl C.* The Determination of Haloacetic Acids in Real World Samples using IC-ESI-MS-MS, *J. Chromatogr. Sci.* 2009. V. 47. P. 523–528.
123. *Liu Y., Mou S.* Determination of trace levels of haloacetic acids and perchlorate in drinking water by ion chromatography with direct injection // *J. Chromatogr. A.* 2003. V. 997. P. 225–235.

124. *Geerdink R.B., Hassing M., Ayarza N., Bruggink C., Wielheesen M., Claassen J., Epema O.J.* Analysis of glyphosate, AMPA, Glufosinate and MPPA with ION chromatography tandem mass spectrometry using A membrane suppressor in the ammonium form application to surface water of low to moderate salinity // *Anal. Chim. Acta.* 2020. V. 1133. P. 66–76.
125. *Гончарова Е.Н., Статкус М.А., Цизин Г.И., Селимов Р.Н.* ВЭЖХ-определение глифосата, аминометилфосфоновой кислоты и глюфосината с использованием пористого графитированного сорбента HYPERCARB // *Вестн. Моск. Ун-Та. Сер.2. Химия.* 2018. Т. 59. С. 395–403.
126. *Коваленко И.В.* Влияние структуры спейсера и цвиттер-иона на свойства новых цвиттер-ионных сорбентов для гидрофильной хроматографии / *Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых “Ломоносов-2021”, секция “Химия”.* Москва. МГУ им. М.В. Ломоносова. 12–23 апреля, 2021. С. 42.
127. <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/Man-065306-Acclaim-Trinity-P1-Man065306-EN.pdf>
128. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Technical-Notes/tn-000771-ccs-acclaim-trinity-lc-columns-polar-pesticides-tn000771-na-en.pdf>
129. https://sielc.com/product/primeseq-sb?_tab=applications
130. <https://www.zirchrom.com/pdf/136.pdf>
131. <https://www.zirchrom.com/pdf/20222023CatalogFinal.pdf>
132. https://sielc.com/product/obelisc-n?_tab=applications
133. https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Specification-Sheets/48829-DS_Acclaim_Mixed-Mode_WAX1_14Feb07_LPN1899.pdf
134. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets%2FCMD%2Fmanuals%2Fman-034217-omnipac-pax-100-500-columns-man034217-en.pdf>
135. *Zhang K., Cao M., Lou C., Wu S., Zhang P., Zhi M., Zhu Y.* Graphene-coated polymeric anion exchangers for ion chromatography // *Anal Chim Acta.* 2017. V. 970. P. 73–81.

Приложения

Приложение 1

Коэффициенты селективности*, эффективность по хлориду (тг/м) и относительная эффективность нитрата для химически модифицированных анионообменников, описанных в литературе

Сорбент	Матрица (размер частиц)	$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$	$\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$	N(Cl)	$\frac{N(\text{NO}_3^-)}{N(\text{Cl}^-)}$	Статья
Фаза, полученная за счёт алкилирования иодометаном	ПС-ДВБ, который нитровали и восстанавливали нитрогруппы (3,3 мкм)	3,3	1,3	—	2600	0,1	[77]
Фаза, полученная за счёт алкилирования 1,6-дибромгексаном и аминирования ТМА		3,6	1,4	—	5700	0,1	
Фаза, полученная за счёт алкилирования иодометаном	ПС-ДВБ, ацилированный и восстановительно аминированный ДМА (3,3 мкм)	8,8	2,2	—	4600	0,4	[16]
Фаза, полученная за счёт алкилирования эпихлоргидрином		4,4	1,7	—	17000	0,5	
Фаза, полученная за счёт алкилирования эпихлоргидрином	ПС-ДВБ, ацилированный и восстановительно аминированный МА (3,3 мкм)	2,3	1,1	—	—	—	
Фаза, полученная за счёт алкилирования 1,4-БДДГЭ и аминирования ТМА	ПС-ДВБ, ацилированный и восстановительно аминированный ДМА (3,3 мкм)	5,8	2,0	—	20000	0,4	[78]
Фаза, полученная за счёт алкилирования 1,4-БДДГЭ и аминирования ТМА	ПС-ДВБ, ацилированный и восстановительно аминированный МА (3,3 мкм)	3,7	1,7	—	55000	0,8	
Фаза, полученная за счёт алкилирования 1,4-БДДГЭ и аминирования ТМА	ПС-ДВБ, ацилированный и восстановительно аминированный МА (3,3 мкм)	3,7	1,5	—	55000	0,6	[75]
Фаза, полученная за счёт алкилирования 1,4-БДДГЭ и аминирования ДМЭА		2,8	1,4	—	51000	0,8	

Фаза, полученная за счёт алкилирования 1,4-БДДГЭ и аминирования ТЭА		2,7	1,4	—	52000	0,7	
Фаза, полученная за счёт алкилирования 1,4-БДДГЭ и аминирования МДЭА		2,0	1,2	—	53000	1,0	
Фаза, полученная за счёт аминирования МА и алкилирования 1,4-БДДГЭ	ГМА-ДВБ (6 мкм)	5,1	1,5	—	—	—	[76]
Фаза, полученная за счёт аминирования ДМА и алкилирования 1,4-БДДГЭ		3,2	1,4	—	—	—	
Фаза, полученная за счёт аминирования ГМА		4,3	1,5	—	—	—	
Фаза, полученная за счёт аминирования диэтиламино и алкилирования 1,4-БДДГЭ		4,5	1,5	—	—	—	
Фаза, полученная за счёт аминирования триэтиламино		7,7	1,6	—	—	—	
Фаза, полученная за счёт алкилирования 1,4-БДДГЭ и аминирования МДЭА	сополимер аллилметакрилата и дивинилбензола, модифицированный цистеамином (5,8 мкм)	3,5	1,4	1,3	25500	—	[19]
Фаза, полученная за счёт алкилирования 1,4-БДДГЭ и аминирования МДЭА	ЭВБ-ДВБ, модифицированный цистеамином (7 мкм)	3,8	1,4	1,3	12500	0,9	

* здесь и далее оценены исходя из хроматограмм с использованием программы WebPlotDigitizer (если коэффициенты селективности, либо факторы удерживания не даны в работе)

Приложение 2

Коэффициенты селективности, эффективность по хлориду (тг/м) и относительная эффективность нитрата для фаз с электростатически закрепленными функциональными слоями, описанных в литературе

Сорбент	Матрица (размер частиц)	$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$	$\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$	N(Cl)	$\frac{N(\text{NO}_3^-)}{N(\text{Cl}^-)}$	Статья
Гиперразветвленные анионообменники							
Фаза с 3-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ	Сульфированный ЭВБ-ДВБ (6,5 мкм)	2,0	—	<1	—	—	[72]
Фаза с 4-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ		2,3	1,2	0,8	—	—	
Фаза с 5-ю слоями из МА и 1,4-БДДГЭ		2,6	—	1	—	—	
Фаза с 5-ю слоями из МА и этиленгликоль-диглицидилового эфира		2,4	1,1	0,7	—	—	
Фаза с 2-мя привитыми слоями из МА и 1,4-БДДГЭ	Сульфированный ПС-ДВБ	3,0	1,3	—	10000	0,8	[87]
Фаза с 6-ю слоями из МА и эпихлоргидрина	Сульфированный ПС-ДВБ (5-8 мкм)	2,1	—	—	20500	0,9	[79]
Фаза с 4-мя слоями из 1,4-БДДГЭ и 2,2'-(этилендиокси)-бис-этиламина	Сульфированный ЭВБ-ДВБ (6,55 мкм)	3,6	1,4	0,8	—	—	[70]
Фаза с 5-ю слоями из 1,4-БДДГЭ и 2,2'-(этилендиокси)-бис-этиламина		7,2	1,8	0,9	—	—	
Фаза с 4-мя слоями из 1,4-БДДГЭ и 1,4-диаминобутана		5,4	1,6	0,8	—	—	
Фаза с 3-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ	Модифицированный окисленными наноалмазами и сульфированный ПС-ДВБ (6 мкм)	2,8	1,3	—	7500	0,9	[46]

Фаза с 2-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ	ПС-ДВБ, покрытый графеном и ПЭИ (6 мкм)	4,0	1,4	—	15000	0,8	[135]
Фаза с 3-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ	Сульфированный ЭВБ-ДВБ	2,7	1,3	—	—	—	[71]
Анионообменники с агломерированными латексами							
Фаза с агломерированными наноалмазами с 2-мя привитыми слоями из МА и 1,4-БДДГЭ	Сульфированный ПС-ДВБ	3,3	1,3	—	12500	0,9	[87]
Фаза с агломерированными углеродными нанотрубками с 3-мя привитыми слоями из МА и 1,4-БДДГЭ	Сульфированный ПС-ДВБ (7,1 мкм)	4,2	1,4	—	25500	0,6	[89]
Фаза с агломерированными нанослоями $g-C_3N_4$ с 7-ю слоями из МА и 1,4-БДДГЭ	Сульфированный ПС-ДВБ (6 мкм)	2,7	1,1	—	28000	0,9	[88]
Фаза с агломерированными углеродными наносферами, модифицированными ПЭИ и с 3-мя слоями из МА и этиленгликоль-диглицидилового эфира	Сульфированный ПС-ДВБ (5,9 мкм)	3,5	1,3	—	26000	0,7	[83]
Фаза с агломерированными латексами с триэтиламмониевыми группами	Покрытый углеродом и сульфированный диоксид циркония (3 мкм)	4,9	1,3	—	—	—	[86]
Фаза с агломерированными углеродными наносферами, модифицированными цистеамином и с 3-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ	Сульфированный ЭВБ-ДВБ (5 мкм)	2,8	1,2	—	71000	0,8	[84]

Фаза с агломерированными углеродными наносферами с привитым разветвленным полиамидамином, кватернизованным глицидолом	Сульфированный ПС-ДВБ (4,2 мкм)	2,6	1,2	—	80000	0,8	[85]
Полиэлектролитные анионообменники							
Фаза с электростатически закрепленным иононом 3-6	Сульфированный силикагель (5 мкм)	1,5	0,9	0,9	—	—	[91]
Фаза с электростатически закрепленным иононом 6-6	Сульфированный ПС-ДВБ (4,8 мкм)	2,8	1,3	> 1	33500	0,9	[90]

Приложение 3

Коэффициенты селективности*, эффективность по хлориду (тг/м) и относительная эффективность нитрата для фаз с ковалентно закрепленными гиперразветвленными слоями, описанных в литературе

Сорбент	Матрица (размер частиц)	$\alpha(\text{NO}_3/\text{Cl})$	$\alpha(\text{NO}_3/\text{Br}^-)$	$\alpha(\text{BrO}_3/\text{Cl})$	N(Cl)	$\frac{N(\text{NO}_3)}{N(\text{Cl})}$	Статья
Фаза с 2-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ	Силикагель, модифицированный 3-(2-аминоэтиламино)пропилтриметоксисиланом (5 мкм)	1,7	1,2	—	37500	0,4	[94]
Фаза с 3-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ		1,9	1,2	—	15500	0,6	
Фаза с 4-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ		2,2	1,3	—	46500	0,3	
Фаза с 3-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ	Сополимер 1,4-ди(2-гидрокси-3-метакрилоилоксипропокси)фенола и триметиллолпропантриметакрилата	2,5	1,4	—	—	—	[95]
Фаза с 7-ю слоями из МА и 1,4-БДДГЭ		3,5	1,4	—	—	—	
Фаза с 11-ю слоями из МА и 1,4-БДДГЭ		4,6	1,5	—	—	—	
Фаза с 15-ю слоями из МА и 1,4-БДДГЭ		5,4	1,6	—	—	—	
Фаза с 3-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ	ПС-ДВБ, на поверхности которого полимеризовали ГМА (7 мкм)	3,0	1,2	—	—	—	[97]
Фаза с 5-ю слоями из МА и 1,4-БДДГЭ		3,5	1,3	—	—	—	
Фаза с 2-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ	Углеродные сферы (3,4 мкм)	2,5	1,2	—	8000	0,7	[96]
Фаза с 2-мя слоями: 1-й из МА и 1,4-БДДГЭ, 2-й — 1,4-БДДГЭ и МДЭА	сополимер аллилметакрилата и дивинилбензола, модифицированный цистеамином (5,8 мкм)	5,4	1,6	1,1	—	—	[19]
Фаза с 2-мя слоями: 1-й из МА и 1,4-БДДГЭ, 2-й — 1,4-БДДГЭ и МДЭА	ЭВБ-ДВБ, модифицированный цистеамином (7 мкм)	4,8	1,5	1,5	—	—	

Фаза с 3-мя слоями: 1-й и 2-й из МА и 1,4-БДДГЭ, 3-й — 1,4-БДДГЭ и МДЭА	ЭВБ-ДВБ, модифицированный цистеином (7 мкм)	3,4	1,4	1,3	16000	0,6	
Фаза с 2-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ	ГМА-ДВБ (6 мкм)	3,6	1,4	—	—	—	[76]
Фаза с 3-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ		3,8	1,4	—	—	—	
Фаза с 3-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ	ПС-ДВБ, ацилированный и восстановительно аминированный МА (11 мкм)	2,9	1,5	1,5	20000	0,8	[69]
Фаза с 4-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ		3,9	1,5	1,6	13000	0,8	
Фаза с 5-ю слоями из МА и 1,4-БДДГЭ		4,4	1,6	1,2	14000	0,6	
Фаза с 5-ю слоями: с глицином и 1,4-БДДГЭ — в 1-ом и МА и 1,4-БДДГЭ — в остальных	ПС-ДВБ, ацилированный и восстановительно аминированный МА (5,8 мкм)	5,3	1,6	1,3	—	—	[98]
Фаза с 6-ю слоями: с глицином и 1,4-БДДГЭ — в 1-ом и МА и 1,4-БДДГЭ — в остальных		5,1	1,6	1,2	—	—	
Фаза с 5-ю слоями: с глицином и 1,4-БДДГЭ — в 1-ом и МА и 1,4-БДДГЭ — в остальных	ПС-ДВБ, ацилированный и восстановительно аминированный МА (5,5 мкм)	4,8	1,6	>1	32000	0,8	[43,67]
Фаза с 5-ю слоями: с таурином и 1,4-БДДГЭ — в 1-ом и МА и 1,4-БДДГЭ — в остальных		4,8	1,6	>1	30000	0,7	
Фаза с 5-ю слоями: с этаноламином и 1,4-БДДГЭ — в 1-ом и МА и 1,4-БДДГЭ — в остальных		5,3	1,6	>1	22000	0,8	
Фаза с 3-мя слоями из МА и 1,4-БДДГЭ	ПС-ДВБ, на поверхности которого полимеризовали N-винилформамид с последующим гидролизом привитого амидного полимера	3,4	1,4	<1	—	—	[71]
Фаза с 3-мя слоями из 1,3-диаминопропана и 1,4-БДДГЭ		—	1,6	<1	—	—	

Приложение 4

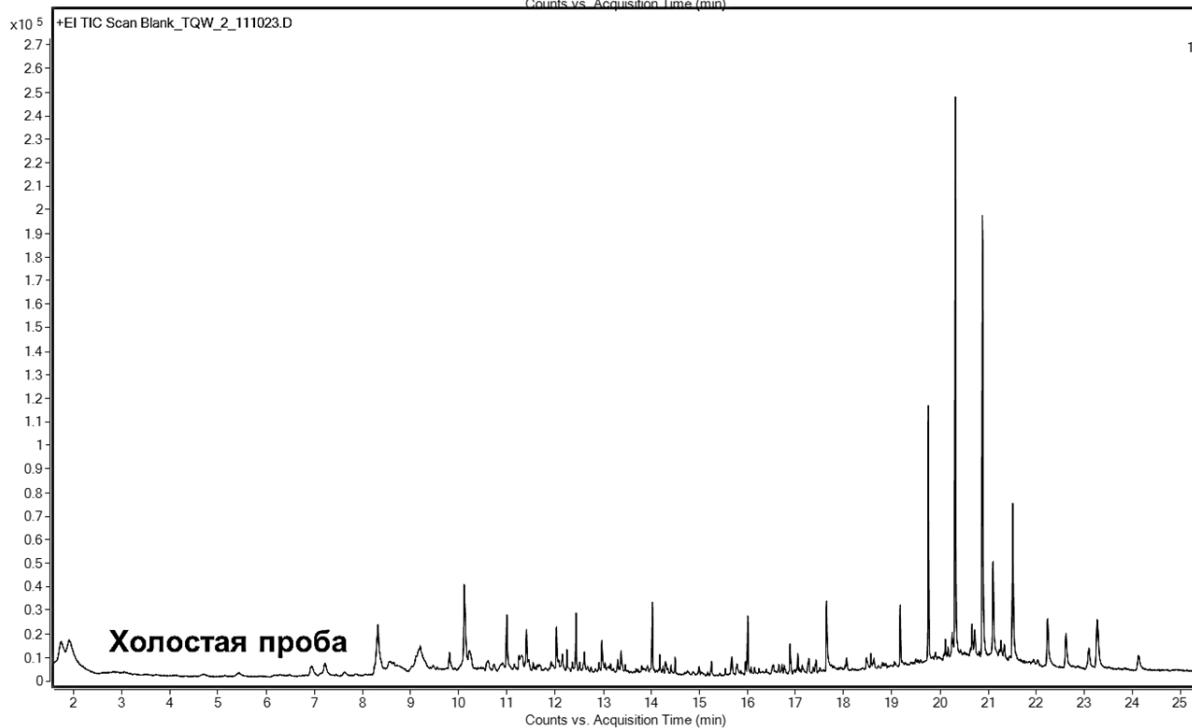
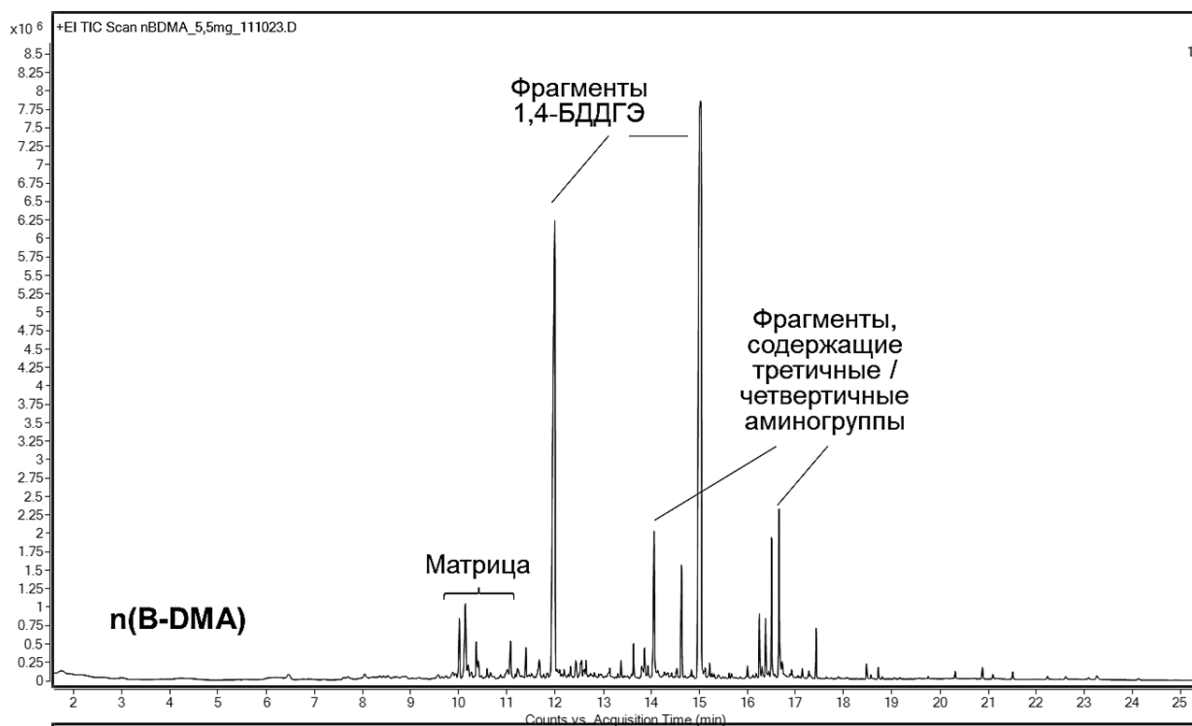
Коэффициенты селективности*, эффективность по хлориду (тг/м) и относительная эффективность нитрата для фаз с привитыми полимерными функциональными слоями, описанных в литературе

Сорбент	Матрица (размер частиц)	$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$	$\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$	N(Cl ⁻)	$\frac{N(\text{NO}_3^-)}{N(\text{Cl}^-)}$	Статья
Фаза ёмкостью 50 ммоль/г с полимеризованным мономером, полученным из 4-винилбензилхлорида и МДЭА	ПС-ДВБ (4,25 мкм)	2,1	1,2	1,7	—	—	[101]
Фаза ёмкостью 600 ммоль/г с полимеризованным мономером, полученным из 4-винилбензилхлорида и МДЭА		4,8	1,3	1,3	—	—	
Фаза с привитым этилендиамином, алкилированным 1,4-БДДГЭ, затем аминированным МДЭА	ГМА-ДВБ (7 мкм)	2,9	1,4	1,2	20500	0,6	[99]
Фаза с привитым диэтилентриамином, алкилированным 1,4-БДДГЭ, затем аминированным МДЭА		3,5	1,4	—	—	—	
Фаза с привитым триэтилтетраамином, алкилированным 1,4-БДДГЭ, затем аминированным МДЭА		4,5	1,5	—	—	—	
Фаза с привитым тетраэтиленпентаамином, алкилированным 1,4-БДДГЭ, затем аминированным МДЭА		4,9	1,6	—	—	—	
Фаза с полимеризованным диметиламиноэтилметакрилатом метилхлорида	ГМА-ДВБ (5,8 мкм)	2,9	1,3	—	46500	—	[102]
Фаза с полимеризованным метакриламидопропил-триметиламмония хлоридом	ГМА-ДВБ (4,3 мкм)	2,5	1,2	1,2	58000	0,8	[103]

Фаза с привитым ПЭИ, кватернизованным глицидолом	ПС-ДВБ, ацилированный и восстановительно аминированный МА (5,5 мкм)	3,0	1,3	1	30000	0,8	[104]
Фаза с привитым ПЭИ, кватернизованным 1,4-БДДГЭ		5,6	1,6	1,1	31000	0,9	
Фаза с привитым ПЭИ, кватернизованным 1,4-БДДГЭ	ГМА-ДВБ (9,6 мкм)	2,4	1,2	1	—	—	[105]
Фаза с привитыми полиэлектролитами, полученными из 1,4-БДДГЭ и МЭА	ЭВБ-ДВБ, модифицированный цистеамином (4,6 мкм)	1,9	1,1	—	38000	0,9	[106]
Фаза с привитыми полиэлектролитами, полученными из 1,4-БДДГЭ и МЭА		1,9	1,1	—	61800	0,9	
Фаза с привитыми полиэлектролитами, полученными из 1,4-БДДГЭ и БДМАЭЭ		2,6	1,2	—	33100	0,3	
Фаза с привитыми полиэлектролитами, полученными из 1,4-БДДГЭ и БДМАЭЭ		2,1	1,1	0,9	52300	0,4	
Фаза со спейсером полиакриловой кислоты и привитыми полиэлектролитами, полученными из 1,4-БДДГЭ и МЭА	ЭВБ-ДВБ, модифицированный акриловой кислотой и цистеамином (6,3 мкм)	—	—	<1	31500	0,9	[107]
Фаза со спейсером ПВС и привитыми полиэлектролитами, полученными из 1,4-БДДГЭ и МЭА	ЭВБ-ДВБ, модифицированный винил ацетатом и цистеамином (6,3 мкм)	3,0	1,3	1,3	44000	0,9	
Фаза с привитым ПЭИ, кватернизованным 2-бромэтанолом	ПС-ДВБ, на поверхности которого полимеризовали АГЭ (5 мкм)	2,7	1,2	—	—	—	[66]

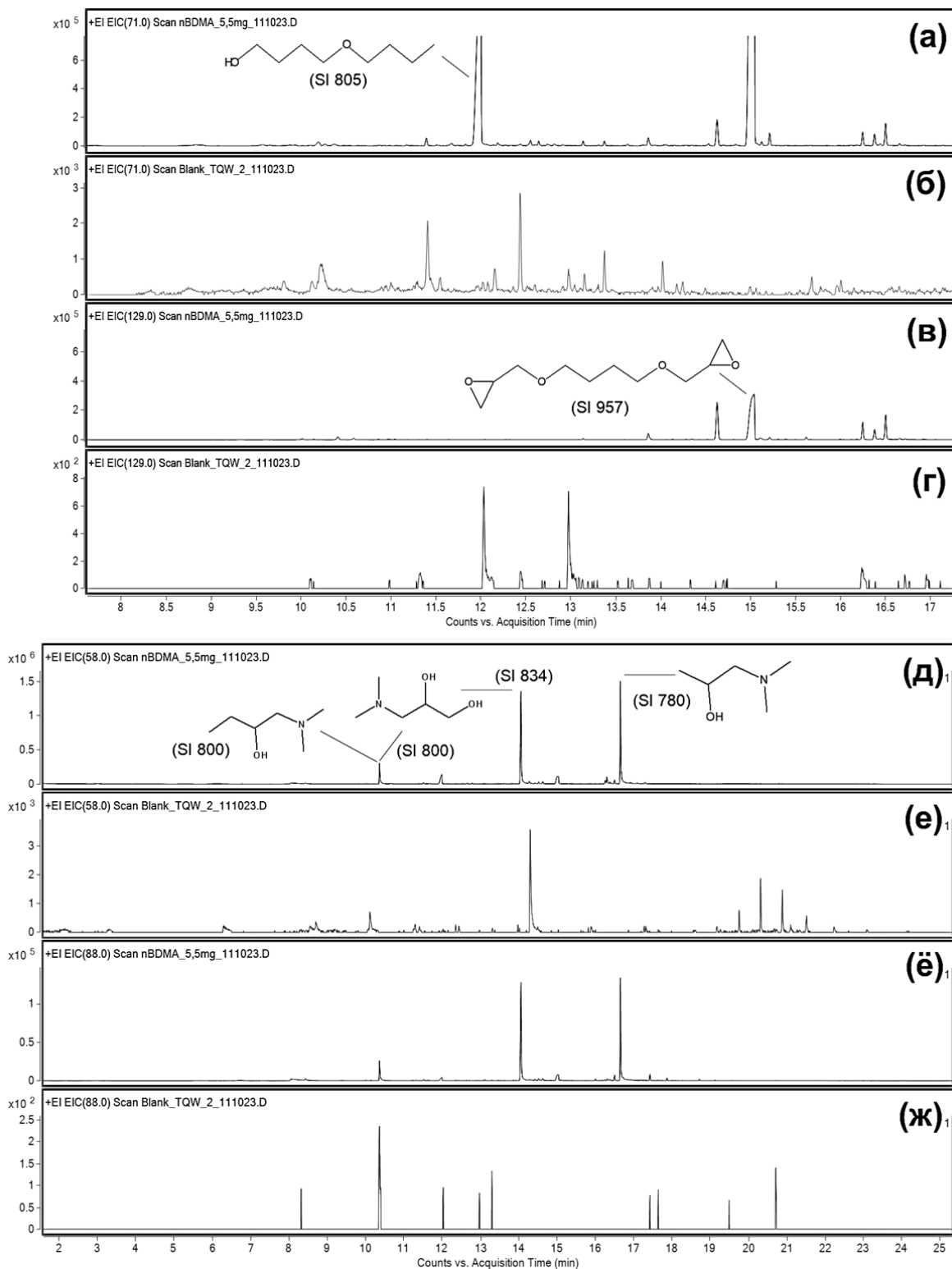
Приложение 5

Хроматограммы по полному ионному току сорбента n(B-DMA) и холостой пробы.



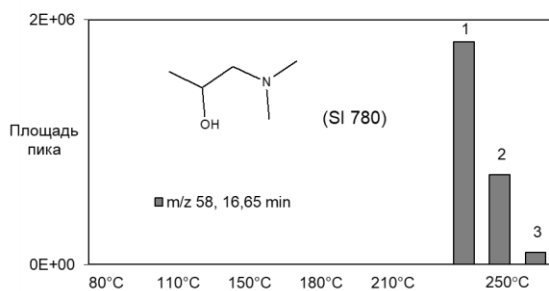
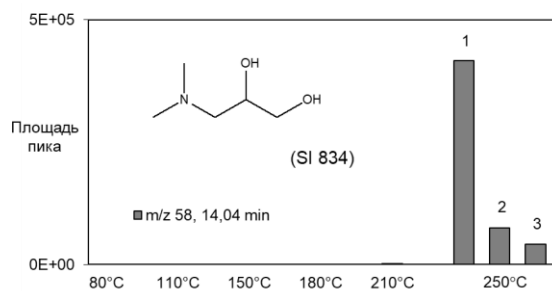
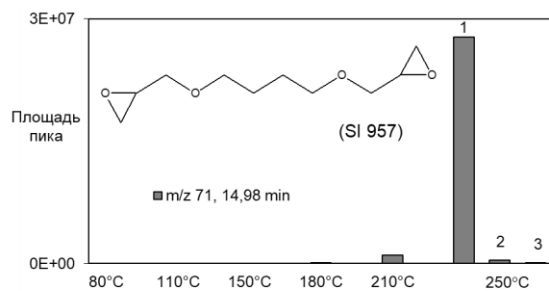
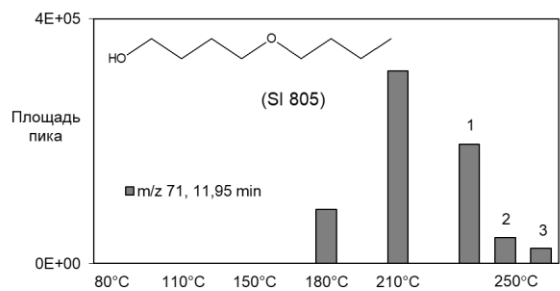
Приложение 6

Хроматограммы по выделенным ионам для сигналов m/z 71, m/z 129, m/z 58 и m/z 88, соответствующих фрагментам 1,4-БДДГЭ и фрагментам функционального слоя, включающим третичные или четвертичные группы (а, в, д, ё – сорбент n(B-DMA), б, г, е, ж – холостая проба).



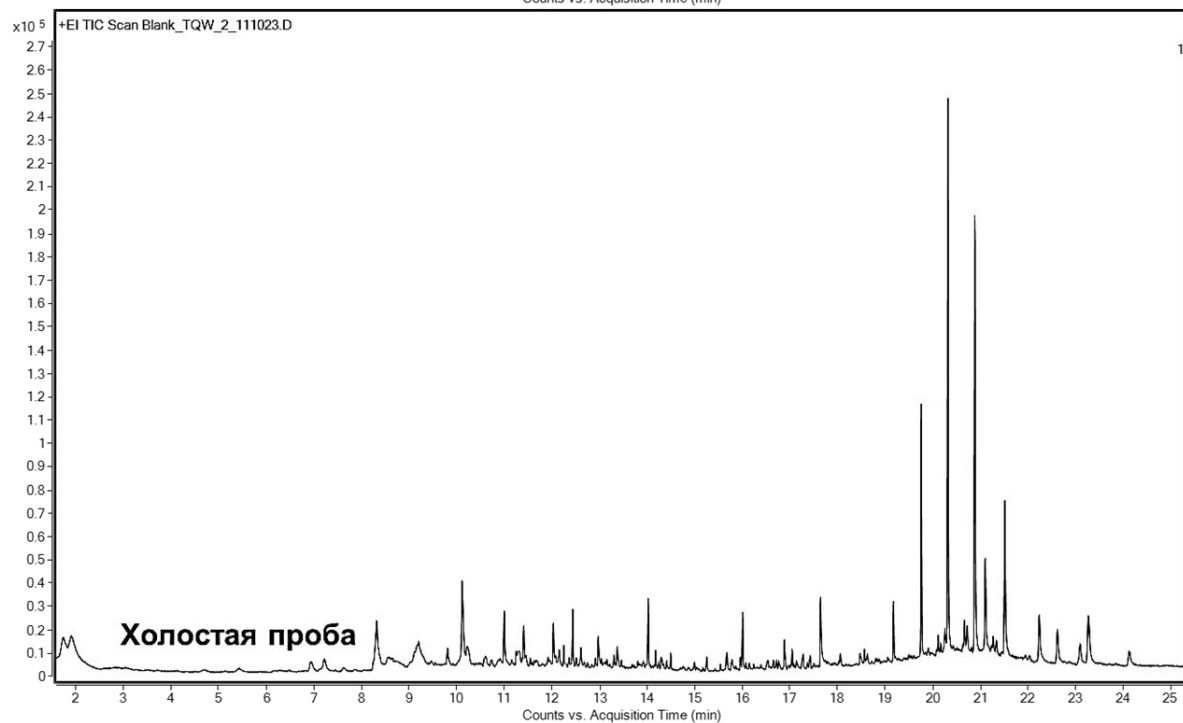
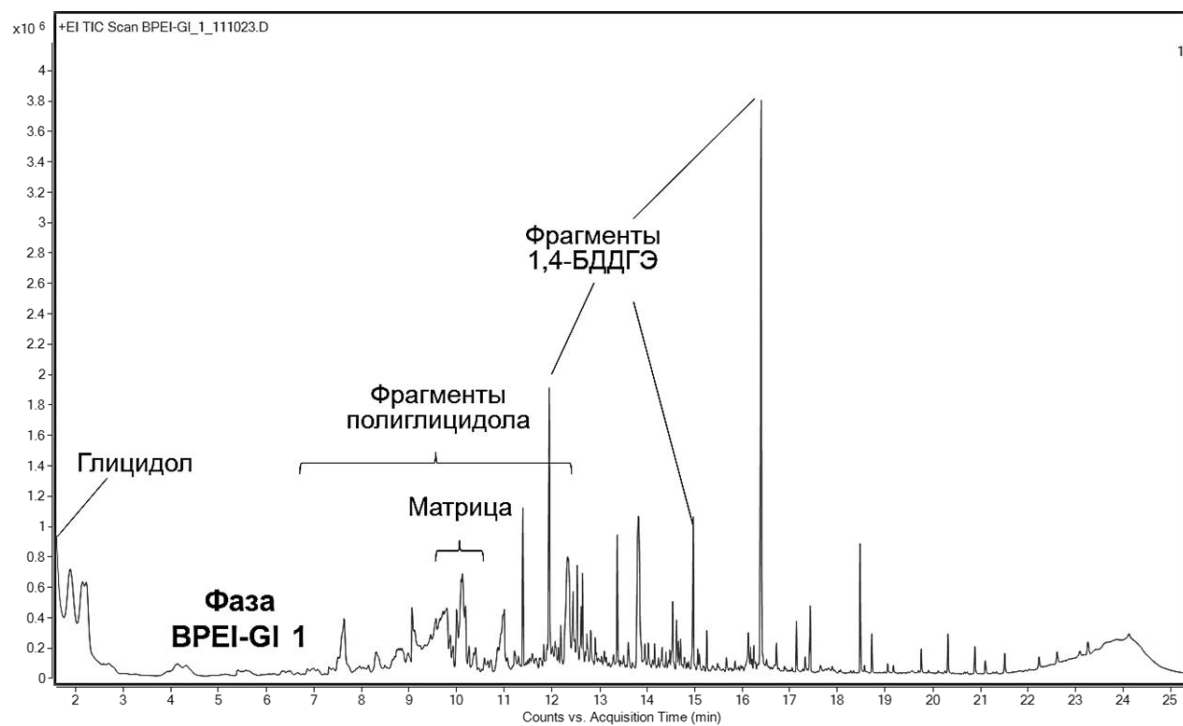
Приложение 7

Площади пиков характерных фрагментов сорбента n(B-DMA) в условиях последовательной термодесорбции (80°C – 250°C).



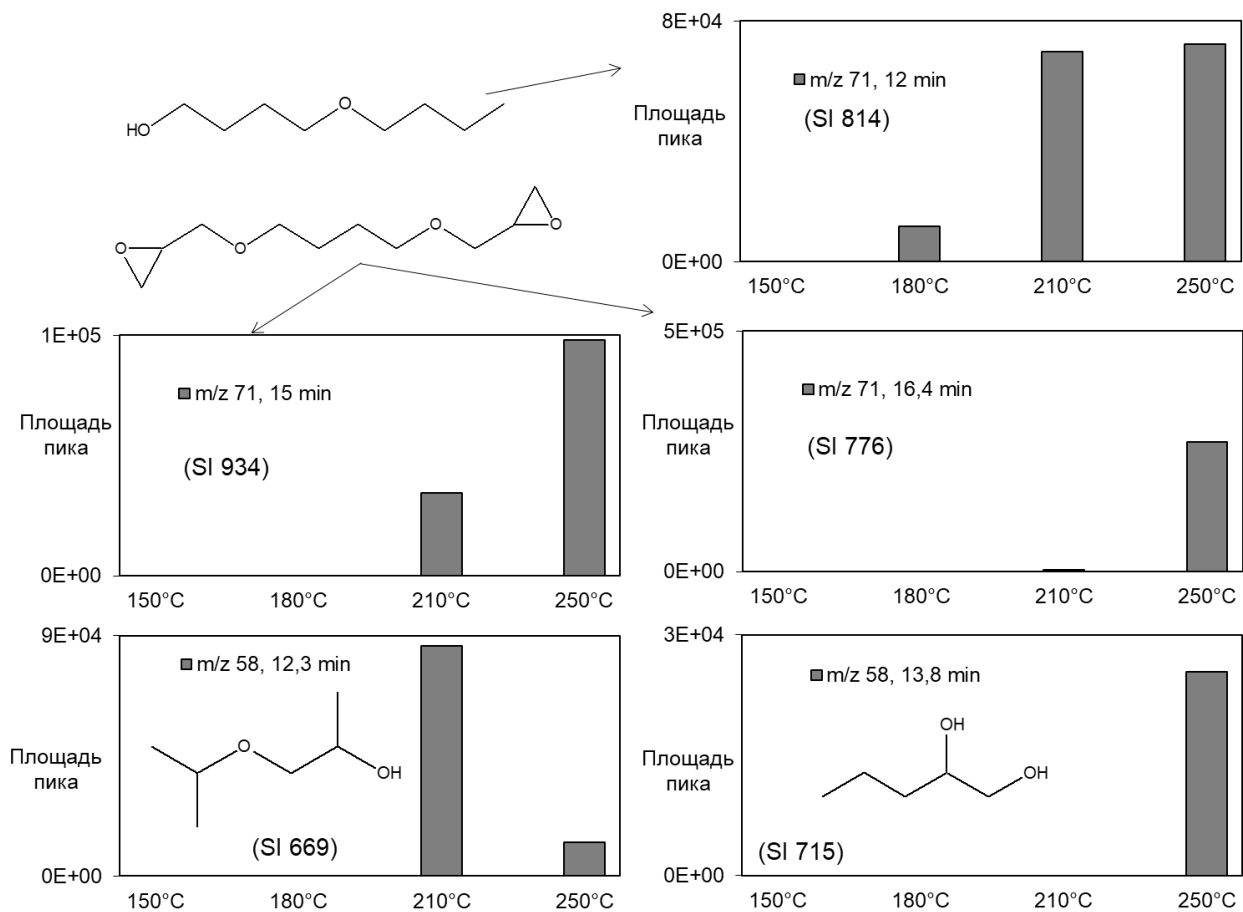
Приложение 8

Хроматограммы по полному ионному току сорбента ВРЕI-GI 1 и холостой пробы.



Приложение 9

Площади пиков характерных фрагментов сорбента ВРЕI-GI 1 в условиях последовательной термодесорбции (150°C – 250°C).



Приложение 10

Факторы удерживания азотистых оснований и нуклеозидов (а), витаминов (б) и сахаров (в) на фазах ВРЕР-п(В-МЕА) и ВРЕР-п(В-DMA). Условия см. гл. 2.7.

