

**ОТЗЫВ официального оппонента**  
**на диссертацию на соискание ученой степени**  
**кандидата химических наук Хрисанфовой Анны Олеговны**  
**на тему: «Разработка способов изучения свойств неподвижных фаз в**  
**условиях гидрофильной хроматографии»**  
**по специальности 1.4.2. Аналитическая химия**

**Актуальность темы исследования.**

Актуальной задачей аналитической хроматографии является одновременное определение полярных нейтральных и заряженных соединений. Селективность метода гидрофильной хроматографии (ГИХ) обеспечивается влиянием сразу нескольких типов взаимодействий, что делает его предпочтительней других методов жидкостной хроматографии.

Неподвижная фаза (НФ) – ключевой параметр хроматографической системы, определяющий селективность разделения. Огромное многообразие колонок для ГИХ с одной стороны расширяет вариативность метода, а с другой – создает проблему правильного выбора НФ для решения конкретной аналитической задачи.

Среди существующих способов описания хроматографических свойств НФ наиболее доступными и часто применяемыми являются: изучение механизмов удерживания тестовых соединений с использованием известных моделей для распределения, адсорбции и ионного обмена, сравнение удерживания аналитов из нескольких классов, а также специальные тесты для оценки влияния различных взаимодействий, основанные на измерении коэффициентов селективности веществ-маркеров (тест Танака). Данные подходы, ввиду своей эмпиричности, имеют ограничения и недостатки, связанные в первую очередь с выбором веществ-маркеров и условиями тестирования, которые особенно проявляются для многофункциональных

сорбентов на основе полистирол-дивинилбензола. Актуальность работы определяется необходимостью развития фундаментальной базы метода ГИХ, разработки новых подходов количественной оценки свойств НФ, а также составления рекомендаций для наиболее эффективного выбора параметров хроматографической системы для решения конкретных аналитических задач.

### **Научная новизна.**

Предложены условия варьирования рН подвижной фазы с высоким содержанием ацетонитрила для изучения закономерностей удерживания аналитов в гидрофильной хроматографии и веществах-маркерах, позволяющих экспрессно сравнивать свойства неподвижных фаз.

Впервые оценены константы диссоциации соединений различных кислотно-основных свойств и структуры, а также установлены диапазоны рН преобладания анионо- и катионообменных свойств силикагеля с привитым эремомицином в среде, содержащей 85-90 об.% ацетонитрила.

Показано, что одновременное применение метода главных компонент, иерархической кластеризации, метода К-средних и индекса Рэнда к данным удерживания биологически активных соединений разных классов позволяет однозначно установить существенные различия в селективности сорбентов с полимерными и низкомолекулярными функциональными слоями и сократить набор тестовых веществ до трёх, позволяющих экспрессно сравнивать свойства неподвижных фаз.

Предложен способ оценки гидрофильности и анионообменных свойств неподвижных фаз по факторам удерживания тиомочевины и метансульфоната, соответственно, в условиях теста Танака для гидрофильной хроматографии, демонстрирующим лучшую корреляцию с объёмом воды, адсорбированной на поверхности фазы, и анионообменной ёмкостью колонок, чем параметры теста Танака.

Показана возможность одновременного хроматографического разделения неорганических катионов и анионов на анионообменниках на

основе силикагеля и полистирол-дивинилбензола в элюенте, содержащем аммонийно-ацетатный буферный раствор и более 80 об.% ацетонитрила.

### **Практическая значимость.**

Установлены закономерности целенаправленного изменения времени удерживания аналита при увеличении рН подвижной фазы, которые можно применять для повышения селективности и экспрессности разделения в гидрофильной хроматографии.

Установлены профили удерживания веществ (катионов, анионов, слабых оснований, кислот и амфолитов) при варьировании концентрации и природы буферного раствора, доли ацетонитрила и температуры колонки на немодифицированном силикагеле и его производных, позволяющие прогнозировать условия элюирования и повышать селективность разделения многокомпонентных смесей.

Выбраны три тестовых вещества (цитидин, 2'-дезоксигуанидин, гуанин) для сравнения селективности неподвижных фаз в условиях ГИХ, что позволяет сократить время тестирования одной колонки с недели до трёх часов. Предложены условия одновременного разделения ионов ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Li^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$ ) с эффективностью до 45000 тт/м на аминированных силикагеле и полистирол-дивинилбензоле с использованием смеси аммонийно-ацетатного буферного раствора  $^w$  рН 4.7 и ацетонитрила в соотношении 15/85 об.%.

На основании полученных закономерностей удерживания предложены условия разделения водорастворимых витаминов, искусственных подсластителей, регуляторов кислотности и консервантов в безалкогольном негазированном напитке.

### **Степень достоверности результатов и апробация работы.**

Достоверность результатов обеспечивалась применением реагентов высокой степени чистоты, контролем стабильности хроматографических колонок, использованием современного хроматографического оборудования и статистической обработкой получаемых данных.

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ в рецензируемых научных изданиях: LCGC International, Journal of Chemometrics, Journal of Chromatography A, Сорбционные и хроматографические процессы. Издания индексируются в международных библиографических базах (Web of science, Scopus) и рекомендованы для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.4.2. Аналитическая химия. Результаты работы апробированы на профильных международных и всероссийских научных конференциях.

Все представленные результаты получены соискателем лично, под его руководством или в соавторстве.

### **Объем и структура работы. Оценка содержания диссертации.**

Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения и выводов, списка литературы из 157 источников и 8 приложений. Материал изложен на 193 страницах, содержит 69 рисунков и 34 таблицы.

**Первая глава** работы представляет собой обзор литературы, в котором автором подробно рассмотрены существующие модели для описания механизмов и закономерностей удерживания в гидрофильной хроматографии. Автор проводит критическую оценку способов описания свойств неподвижных фаз, выделяя их ограничения и недостатки.

**Вторая глава**, относящаяся к экспериментальной части, посвящена описанию оборудования и реагентов, использованных в работе, содержит информацию о характеристиках неподвижных фаз и тестовых веществ. Приведена необходимая информация о способе приготовления буферных растворов, измерения  $w^s pK_a$  веществ и анионообменной ёмкости колонок. Даны необходимые сведения об использованных методах многомерной обработки данных.

Следующие главы содержат основные результаты диссертационной работы и их обсуждение. В **третьей главе** проведён обоснованный выбор состава подвижной фазы и принципов его варьирования. Особое внимание уделено контролю pH элюента, поскольку его влияние на удерживание аналитов в гидрофильной хроматографии является комплексным.

**В четвёртой главе** содержится подробное описание влияния состава элюента на механизмы и закономерности удерживания широкого круга веществ на немодифицированном силикагеле, а также его производных с основными, нейтральными и многофункциональными слоями. Показано сходство профилей удерживания ионизируемых соединений при изменении рН подвижной фазы на рассматриваемых неподвижных фазах, что является интересным наблюдением. В работе также установлены термодинамические параметры удерживания, которые автору удалось связать с обнаруженными закономерностями и механизмами удерживания. Полученные закономерности позволили успешно выбрать условия разделения компонентов реального объекта.

**Пятая глава** отличается применением ряда хемометрических подходов к массиву хроматографических данных. Это позволило не только показать различия в селективности полярных неподвижных фаз с низко- и высокомолекулярными функциональными слоями, но и выделить сокращённый набор веществ-маркеров, позволяющий группировать фазы аналогичным образом, как в случае использования 33 соединений, что существенно экономит время, требуемое на характеризацию сорбентов.

**Шестая глава** посвящена проблеме описания свойств неподвижных фаз с использованием параметров теста Танака. В результате изучения механизмов удерживания предложены новые вещества-маркеры для более корректной оценки гидрофильности и анионообменных свойств сорбентов как на основе силикагеля, так и полистирол-дивинилбензола.

По логике представления материала и по объёму проведенных исследований работа в целом является достаточно обоснованным, завершённым трудом и соответствует уровню, предъявляемому к кандидатским диссертациям.

### **Замечания и вопросы.**

Работа выполнена на высоком уровне, принципиальных замечаний по оформлению и содержанию диссертации и автореферата нет. Все ранее сделанные замечания соискателем устранены.

Однако, имеются вопросы и пожелания:

1. На основании закономерностей удерживания автор приводит условия одновременного разделения неорганических катионов и анионов на анионообменниках (аминированном силикагеле и аминированном полистирол-дивинилбензоле), что ранее было возможно только на модифицированных НФ. Применимы ли данные закономерности к выбору условий разделения на других НФ? Имеются ли, если да - то какие, преимущества разделения именно на анионообменниках?

2. Вероятно, автору не следовало полностью отказываться от использования в своих исследованиях модели Абрахама (Linear Free Energy Relationship), ведь, как сам автор справедливо отмечает, модель LFER дает достаточно подробную информацию о взаимодействиях в гидрофильной хроматографии.

3. Было бы интересно увидеть итоговую классификацию/характеризацию 46 изученных НФ, приведенную к единому виду (по аналогии с примерами характеристики, приведенными на рис. 11).

### **Заключение.**

Указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.4.2. Аналитическая химия (по химическим наукам), а также критериям, определенным п.п. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова. Диссертационное исследование оформлено согласно

требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Хрисанфова Анна Олеговна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2. Аналитическая химия.

Официальный оппонент:

Зайцева Елена Александровна

кандидат химических наук,

старший научный сотрудник лаборатории сорбционных методов, ученый секретарь по направлению «аналитическая химия»

«Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук (ГЕОХИ РАН)

\_\_\_\_\_  
/Зайцева Е.А./

17.03.2026

Контактные данные:

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:  
02.00.02 – аналитическая химия, 02.00.04 – физическая химия

Адрес места работы:

119991, г. Москва, ул. Косыгина, д. 19,

ГЕОХИ РАН, лаборатория сорбционных методов.