



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11565

Новые высокогидрофильные сорбенты с привитыми полимерными слоями для жидкостной хроматографии

Анастасия Владимировна Горбовская,
Арсений Александрович Тимичев, Алла Валерьевна Чернобровкина,
Анна Станиславовна Ужель[✉], Олег Алексеевич Шпигун

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия,
anna_uzhel@mail.ru[✉]

Аннотация. Целью работы являлось получение новых многофункциональных неподвижных фаз с повышенной гидрофильностью и их применение в режиме ионной и гидрофильной хроматографии. Сорбенты получали путем последовательного ковалентного закрепления разветвленного полиэтиленimina и полиэлектролитов, синтезированных из диэпоксида и вторичного амина, на поверхности эпоксицированного полистирол-дивинилбензола. Для увеличения степени экранирования полимерной матрицы осуществлялась дополнительная полимеризация глицидола в функциональном слое сорбента при повышенном pH реакционной среды.

Синтезированные фазы обладают повышенной гидрофильностью по сравнению с большинством сорбентов на основе сополимера стирола и дивинилбензола с ковалентно привитыми слоями. Об этом в режиме ионной хроматографии свидетельствует снижение относительного удерживания поляризуемых анионов, слабо гидратированных оксогалогенидов (вплоть до изменения порядка элюирования бромат-иона) и галогенуксусных кислот. В режиме гидрофильной хроматографии повышенная гидрофильность фаз подтверждается ростом факторов удерживания полярных аналитов, а также обращением порядка элюирования аскорбиновой и никотиновой кислот по сравнению с фазами на основе полистирол-дивинилбензола, представленными в литературе. Отмечена невысокая эффективность полученных неподвижных фаз в режиме ионной хроматографии, связанная с замедленным массопереносом в объемном полимерном функциональном слое. В режиме гидрофильной хроматографии негативное влияние полимерного слоя на эффективность проявляется меньше из-за предположительно меньшей толщины части функционального слоя, задействованного в этом режиме.

Предложенный способ синтеза сорбентов обеспечил повышение эффективности, селективности и разделяющей способности сорбентов в режиме гидрофильной хроматографии по сравнению с фазами на основе сополимера стирола и дивинилбензола, описанными ранее в литературе. Полученный высокогидрофильный сорбент позволил разделить смесь 9 азотистых оснований и нуклеозидов за 18 мин, 6 витаминов за 24 мин и 8 сахаров за 11 мин. Таким образом, предложенный в данной работе способ гидрофилизации матрицы перспективен для улучшения хроматографических характеристик фаз в гидрофильном режиме и может быть использован при создании сорбентов с повышенной селективностью и эффективностью.

Ключевые слова: сорбенты с привитым полимером, ионная хроматография, гидрофильная хроматография, гидрофилизация, полистирол-дивинилбензол, эпоксицирование.

Благодарности: работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 20-13-00140. Работа выполнена в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды» с использованием оборудования ЦКП МГУ «Технологии получения новых наноструктурированных материалов и их комплексное исследование», приобретенного МГУ по программе обновления приборной базы в рамках национального проекта «Наука» и в рамках Программы развития МГУ.

Для цитирования: Горбовская А.В., Тимичев А.А., Чернобровкина А.В., Ужель А.С., Шпигун О.А. Новые высокогидрофильные сорбенты с привитыми полимерными слоями для жидкостной хроматографии // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 558-569. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11565>



Original article

Novel highly hydrophilic resins with grafted polymer layers for liquid chromatography

Anastasiia V. Gorbovskaia, Arsenii A. Timichev, Alla V. Chernobrovkina,
Anna S. Uzhel[✉], Oleg A. Shpigun

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, anna_uzhel@mail.ru [✉]

Abstract: The aim of the work was to obtain novel mixed-mode stationary phases with increased hydrophilicity and to apply them in ion and hydrophilic interaction liquid chromatography modes. The resins were prepared by covalent attachment of branched polyethyleneimine and following fixation of polyelectrolytes obtained via reaction of diepoxide and secondary amine on the base of epoxidized polystyrene-divinylbenzene. Polymerization of glycidol in the functional layer of the phases was conducted at an increased pH of the reaction medium for additional shielding of the substrate.

Synthesized resins are highly hydrophilic as compared to the majority of phases based on a copolymer of styrene and divinylbenzene with covalently grafted layers. It is evidenced by a decreased relative retention of polarizable anions, weakly hydrated oxyhalides (up to changing the elution order of bromate), and haloacetic acids in ion chromatography mode. Increased hydrophilicity of the phases in hydrophilic interaction liquid chromatography mode is confirmed by the growth of polar analytes' retention factors, as well as changing the elution order of ascorbic and nicotinic acids as compared to polystyrene-divinylbenzene-based phases presented in the literature. The low efficiency of the obtained stationary phases in ion chromatography mode was noted, which is associated with slow mass transfer in the bulky polymer functional layer. The negative effect of the polymer layer on efficiency in hydrophilic interaction liquid chromatography is less pronounced due to the presumably smaller thickness of the functional layer's part involved in this mode.

Proposed synthesis method provided the increase of phase's efficiency, selectivity, and separation ability in hydrophilic interaction liquid chromatography mode in comparison with phases based on a copolymer of styrene and divinylbenzene described earlier in the literature. Obtained highly hydrophilic resin made it possible to separate mixture of 9 nitrogenous bases and nucleosides in 18 min, 6 vitamins in 24 min, and 8 sugars in 11 min. Thus, the method of hydrophilizing the substrate described in this work is promising for improving the chromatographic characteristics of phases in hydrophilic interaction liquid chromatography and can be used for creation of resins with increased selectivity and efficiency.

Key words: polymer-grafted phases, ion chromatography, hydrophilic interaction liquid chromatography, hydrophilization, polystyrene-divinylbenzene, epoxidation.

Acknowledgments: this work was supported by Russian Scientific Foundation through the grant № 20-13-00140. The work was conducted within the framework of the Development Program of the Interdisciplinary Scientific and Educational School of Moscow University "The Future of the Planet and Global Environmental Changes" using the equipment of the Central Collective Use Center of Moscow State University "Technologies for Obtaining New Nanostructured Materials and Their Comprehensive Study", acquired by Moscow State University under the program for updating the instrumentation base within the framework of the national project "Science" and within the framework of the Development Program of Moscow State University.

For citation: Gorbovskaia A.V., Timichev A.A., Chernobrovkina A.V., Uzhel A.S., Shpigun O.A. Novel highly hydrophilic resins with grafted polymer layers for liquid chromatography. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 558-569 (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11565>

Введение

На сегодняшний день методы жидкостной хроматографии находят применение в фармацевтической, пищевой промышленности, клинической практике и многих других областях человеческой деятельности. Создание неподвижных фаз, которые можно было бы одновременно

использовать сразу в нескольких хроматографических режимах, может позволить сократить затраты на покупку дорогостоящий колонок. Кроме того, благодаря реализации нескольких механизмов удерживания, подобные многофункциональные сорбенты могут обеспечивать лучшую селективность при разделении сложных многокомпонентных смесей [1].

Сополимер стирола и дивинилбензола (ПС-ДВБ) со степенью сшивки 25% и более уже давно используют при создании сорбентов для ионной хроматографии (ИХ), что связано с его высокой механической устойчивостью, стабильностью во всем диапазоне рН и возможностью работы со 100% органическими растворителями [2]. Благодаря возможности реализации гидрофобных взаимодействий, сорбенты на основе такого рода матриц способны удерживать неполярные вещества, и их можно применять в обращенно-фазовом режиме [3]. С другой стороны, эти взаимодействия также приводят к размыванию пиков и значительному удерживанию полярных анионов в режиме ИХ [4] и слабому удерживанию полярных анионов в режиме гидрофильной хроматографии (ГИХ). Способы введения якорных групп, альтернативные классическим, могут привести к уменьшению гидрофобных взаимодействий анионов с матрицей. Одним из таких подходов является модифицирование по двойным связям, например, их окисление до реакционноспособных эпоксигрупп.

Известно, что повысить эффективность анионообменников на основе ароматических матриц возможно за счёт гидрофилизации функционального слоя [4,5], а также путем ее экранирования разветвленными слоями [5] или полимерами, например, полиаминами [6, 7] или полиэлектролитами [8]. Сорбенты на основе аминированного ПС-ДВБ с привитыми полиэлектролитами, сформированными *in situ* из диэпоксида и вторичного амина, успешно применили для разделения аминокислот в режиме ГИХ с масс-спектрометрическим детектированием [9]. В работе [10] исследована возможность применения сорбентов на основе того же ПС-ДВБ с привитым полиэтиленимином (ПЭИ) как в режиме ИХ с подавлением фоновой электропроводности, так и в режиме ГИХ. Несмотря на достаточно высокую селективность таких сор-

бентов, они в значительной степени уступают в гидрофильности в режиме ГИХ фазам на основе силикагеля, а также сорбенту на основе аналогично модифицированного ПС-ДВБ с привитым гиперразветвленным слоем [11]. В статьях [12, 13] использовали полимеризацию глицидола в щелочной среде с целью получения фаз с полимерным слоем для работы в режиме ГИХ, а в [14] с помощью неё модифицировали ионообменные центры для управления селективностью коммерческих анионообменников. Интересным представляется объединение перечисленных стратегий для получения высокогидрофильного сорбента для работы в режимах ИХ с подавлением и ГИХ.

Таким образом, целью работы является получение сорбентов на основе эпоксицированного ПС-ДВБ с привитыми ПЭИ и полиэлектролитами, полученными из диэпоксида и вторичного амина, и их применение в режиме ИХ и ГИХ. Для увеличения степени экранирования предложено дополнительно полимеризовать глицидол в функциональном слое сорбента при повышенном рН реакционной среды.

Экспериментальная часть

Приборы и материалы. В качестве матрицы для синтеза сорбентов использовали ПС-ДВБ, идентичный использованному в работах [9-11, 15]: степень сшивки 50%, средний диаметр зерен 5.5 ± 0.5 мкм, площадь поверхности $650 \text{ м}^2/\text{г}$, средний объём пор $0.6 \text{ см}^3/\text{г}$ и средний диаметр пор 4 нм.

Для синтезов использовали следующие реактивы и растворители: дихлорметан (99.9%) («Acros Organics», Бельгия), соляную кислоту (х.ч), гидроксид натрия (х.ч.) («Химмед», Россия), метиламин (40%-ный раствор в метаноле) («ТСИ», Япония), этанол (ч.д.а.), метанол (ч.д.а.) («Лабтех», Россия), нитрат натрия (>99.0%) («Merck», Германия), 1,4-бутандиолдиглицидиловый эфир (>96,0%),



триметиламин (45%-ный водный раствор), полиэтиленимин ($M_w \sim 800$), мета-хлорпербензойная кислота (77%), гидроксид калия (водный раствор 45% масс.) («Aldrich», США).

Для приготовления подвижных фаз и растворов аналитов использовали деионизованную воду и реактивы квалификации х.ч. или ч.д.а. компаний «Компонент-Реактив», «Реахим», «Химмед» и «Лабтех» (Россия), «Panreac» (Испания), «Merk» (Германия), «Aldrich» (США), TCI (Япония).

Эксперименты проводили на жидкостном хроматографе Dionex ICS-3000 (ThermoFisher Scientific, США), укомплектованном градиентным насосом, кондуктометрическим детектором, генератором элюента и электромембранным подавителем фонового сигнала; на жидкостном хроматографе Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, США), состоящем из двухканального насоса высокого давления, автоматической системы ввода пробы, термостата для колонок и детектора на диодной матрице; на жидкостном хроматографе Vanquish Flex с флуоресцентным детектором FLD и диодно-матричным детектором DAD. Объем дозирующей петли составлял 25 мкл. Сбор и обработку хроматографических данных проводили с использованием программного обеспечения «Chromeleon 6.8», «Chromeleon 7.3» (ThermoFisher Scientific, США).

В работе использовали стальные колонки размером 100×4 мм. Для получения суспензии сорбента использовали деионизованную воду (20 см^3 на 1 г сорбента), а для упаковки колонок – 15 мМ раствор Na_2CO_3 . Введение суспензии в хроматографическую колонку, упаковку и уплотнение частиц сорбента осуществляли при давлении 400 бар при помощи насоса «Knauer K-1900» («Knauer», Германия). Тестирование колонок проводили при температуре 30°C .

Синтез сорбентов. Для получения эпоксицианированной матрицы остаточные

двойные связи на поверхности ПС-ДВБ окисляли мета-хлорпербензойной кислотой. Для этого суспендировали ПС-ДВБ в дихлорметане (на 1 г ПС-ДВБ 20 см^3 дихлорметана), добавляли м-ХПБК (на 1 г ПС-ДВБ 0,0012 моль м-ХПБК). Реакционную смесь перемешивали на шейкере при 37°C в течение 19 ч. После завершения реакции продукт промывали этанолом и водой. Дальнейший синтез проводили в дистиллированной воде (20 см^3 на 1 г матрицы). Сначала осуществляли обработку полученного продукта метиламином при 80°C в течение 24 ч, после чего проводили гидролиз непрореагировавших эпокси-групп в кислой среде при 70°C в течение 2 ч, а затем алкилировали якорные аминогруппы 1,4-бутандиолдиглицидоловым эфиром при 60°C в течение 24 ч. Дальнейшую обработку ПЭИ проводили аналогично работе [7], а полиэлектролиты прививали аналогично работе [9], но при 60°C . Обработку глицидолом проводили при 80°C в течение 1 ч: сначала добавляли 100 мкл 45% раствора КОН, через 5 мин постепенно добавляли глицидол.

Обсуждение результатов

В данной работе синтезирован сорбент на основе эпоксицианированного ПС-ДВБ с ковалентно привитыми ПЭИ и полиэлектролитами, сформированными из 1,4-бутандиолдиглицидолового эфира и метилэтанолamina – ЕВРЕИ-п(В-МЕА), а за счёт дополнительной полимеризации глицидола при повышенном рН реакционной среды получена фаза ЕВРЕИ-п(В-МЕА)-ГІ. Предполагается, что с помощью образующихся фрагментов полиглицидола возможно повысить степень экранирования матрицы.

Для оценки гидрофильности анионообменников в режиме ИХ применяли ряд селективностей, ранее использованных в работах [10, 15, 16]. По снижению $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$, $\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{Cl}^-)$ и $\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{NO}_3^-)$ можно

Таблица 1. Коэффициенты селективности по парам, отражающим степень гидрофилизации функционального слоя в режиме ИХ, факторы удерживания хлорида и сульфата, абсолютная эффективность по хлориду, относительные эффективности ($N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$) и асимметрия пиков поляризуемых анионов Элюент: EBPEI-n(B-MEA) – 8 мМ KOH, EBPEI-n(B-MEA)-G1 – 4 мМ KOH, кроме элюента для сильнополяризуемых анионов: 30 мМ KOH

Table 1. Selectivity coefficients for pairs reflecting the degree of functional layer hydrophilization in IC mode, retention factors of chloride and sulfate, absolute efficiency for chloride, relative efficiencies ($N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$) and asymmetry factors for polarizable anions. Eluent: EBPEI-n(B-MEA) – 8 mM KOH, EBPEI-n(B-MEA)-G1 – 4 mM KOH, except for highly polarizable anions: 30 mM KOH

Анионообменник	EBPEI-n(B-MEA)		EBPEI-n(B-MEA)-G1	
$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$	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
BF_4^-	0.11	2.1	0.13	1.7
I^-	0.14	2.3	0.26	1.4
ClO_4^-	0.09	2.5	0.10	2.2
SCN^-	0.09	2.5	0.18	1.8

*элюент: 8 мМ KOH

судить о снижении степени сшивки функционального слоя и повышении степени гидрофилизации сорбента, по уменьшению $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$ – о снижении влияния не-ионообменных взаимодействий, по снижению $\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$ – о повышении степени экранирования ароматической матрицы. В режиме ИХ фаза EBPEI-n(B-MEA) характеризовалась довольно высокой гидрофильностью и степенью экранирования, о чём говорят одни из самых низких параметров (табл. 1) по сравнению со многими фазами, ранее описанными в литературе [5-7, 10]. За счёт полимеризации глицидола в функциональном слое их удалось дополнительно понизить, что привело к изменению порядка элюирования для пары $\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-$ (рис. 1а). Даже несмотря на повышение элюирующей способности гидроксид-иона при повышении гидрофильности фаза EBPEI-

n(B-MEA)-G1 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. 1).

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. 1). Низкая абсолютная

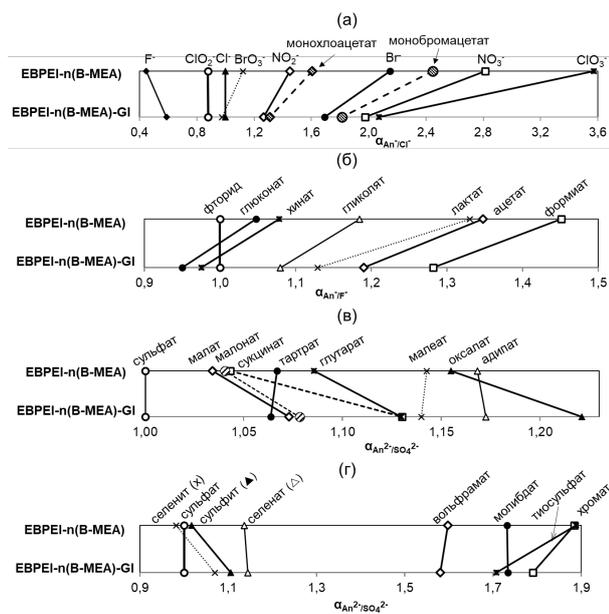


Рис. 1. Селективность по отношению к стандартным анионам, оксогоалогенидам и галогенуксусным кислотам (а), анионам одно- (б) и двухосновных (в) органических кислот и оксоанионам (г). Элюент: (а): см. табл. 1, (б): EBPEI-n(B-MEA) – 2 mM KOH, EBPEI-n(B-MEA)-GI – 4 mM KOH; (в), (г): EBPEI-n(B-MEA) – 8 mM KOH, EBPEI-n(B-MEA)-GI – 10 mM KOH.

Fig. 1. Selectivity toward standard anions, oxohalides and haloacetic acids (a), mono- (b) and divalent (c) organic acids, and oxoanions (d). Eluent: (a): see Table 1, (b): EBPEI-n(B-MEA) – 2 mM KOH, EBPEI-n(B-MEA)-GI – 4 mM KOH; (c), (d): EBPEI-n(B-MEA) – 8 mM KOH, EBPEI-n(B-MEA)-GI – 10 mM KOH.

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%). Это подтверждает сохранение влияния матрицы на

удерживание аналитов, склонных к не-ионообменным взаимодействиям, при её экранировании ПЭИ и полиэлектролитами.

Ещё одним подтверждением сравнительно высокой гидрофильности и степени экранирования полученных фаз в режиме ИХ является сниженное удержание галогенуксусных кислот по сравнению с другими ковалентно привитыми фазами на основе ПС-ДВБ. Так на сорбенте средней гидрофильности с привитым ПЭИ и полиглицидолом [15] монохлорацетат элюировался одновременно с бромидом, а монобромацетат – после хлората, в то время как на фазах, синтезированных в данной работе, указанные галогенуксусные кислоты удалось элюировать до бромидов и нитрата, соответственно (рис. 1а). Ожидается, повышенная гидрофильность полученных сорбентов привела к низкой селективности по отношению к анионам органических кислот (рис. 1б, 1в). При переходе от

Таблица 2. Параметры теста Танака. Элюент: CH₃CN – 20 мМ ацетатно-аммонийный буферный раствор с рН 4.7 (90 : 10, об. %), скорость потока 0.5 см³/мин, УФ-детектирование при 254 нм

Table 2. Tanaka tests parameters. Eluent: CH₃CN – 20 mM ammonium acetate buffer solution pH 4.7 (90 : 10, v/v), flow rate 0.5 cm³/min, UV detection at 254 nm

Сорбент	E-BPEI-n(B-MEA)	E-BPEI-n(B-MEA)-G1
k(U)	3.18	2.24
α(OH)	2.34	2.01
α(CH ₂)	1.41	1.35
α(V/A)	1.54	1.48
α(CX)	0	0
α(AX)	86.9	41.4
α(Tb/Tr)	0.22	0.35

сорбента E-BPEI-n(B-MEA) к E-BPEI-n(B-MEA)-G1 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. 1г). Несмотря на высокую гидрофильность данных фаз, их невысокая эффективность и селективность определили и их низкую разделяющую способность в режиме ИХ.

Для обеих фаз в режиме ГИХ провели тест Танака (табл. 2). Фаза E-BPEI-n(B-MEA) характеризовалась наибольшими гидроксильной α(OH) и метиленовой α(CH₂) селективностями из всех фаз на основе ПС-ДВБ, описанных в литературе [9-11, 15, 17, 18]. По фактору удерживания уридина k(U), позволяющему судить о гидрофильности в режиме ГИХ, данная фаза уступила только сорбенту с гиперразветвленным слоем [11]. В то же время полимеризация глицидола привела к уменьшению указанных параметров, а также к существенному снижению анионообменной селективности α(AX), несмотря на большую ёмкость в режиме ИХ. Это подтверждает повышение степени экранирования матрицы за счёт закрепления фрагментов полигдицидола.

В режиме ГИХ исследовали удерживание модельных аналитов разных классов на наиболее гидрофильной фазе E-BPEI-

n(B-MEA) и провели сравнение её характеристик с таковыми для сорбентов с привитыми ПЭИ, кватернизованным глицидолом, на основе аминированного ПС-ДВБ (BPEI-G1 x3 [10]) и эпоксицированного ПС-ДВБ (EBPEI-G1 1 [15]), а также для гиперразветвленного сорбента на основе аминированного ПС-ДВБ [11]. Факторы удерживания всех модельных веществ коррелируют с гидрофильностью k(U) фаз, описанных в работах [10,15], и расходятся с таковой для гиперразветвленной фазы [11] (k(U)=7.2). Большие факторы удерживания на колонке E-BPEI-n(B-MEA) для всех сахаров, кроме рибозы, а также аскорбиновой кислоты и рибофлавина по сравнению с фазой [11] свидетельствуют о большей гидрофилизации и лучшем экранировании гидрофобной матрицы по новой предложенной схеме. Как следствие, новая колонка характеризовалась более высокой эффективностью в режиме ГИХ среди всех рассмотренных (табл. 3). Негативное влияние полимерного слоя, связанное с замедленным массопереносом, в этом режиме проявляется меньше, что может быть связано с меньшей толщиной части функционального слоя, задействованного в режиме ГИХ по сравнению с режимом ИХ.

Фаза E-BPEI-n(B-MEA) также позволила разделить 9 азотистых оснований и нуклеозидов за 18 мин (рис. 2а), но по

Таблица 3. Эффективность и асимметрия пиков азотистых оснований и нуклеозидов, водорастворимых витаминов и сахаров для колонки EBPEI-n(B-MEA). Элюент: для азотистых оснований и нуклеозидов: CH₃CN – 20 мМ аммонийно-формиатный буферный раствор с pH 3.0 (90 : 10, об. %); для витаминов: CH₃CN – 100 мМ аммонийно-формиатный буферный раствор с pH 3.0 (93 : 7, об. %) для никотинамида, В₆ и В₂, (70 : 30, об. %) для В₁₂, С и никотиновой кислоты; для сахаров: CH₃CN – H₂O (85 : 15, об. %)

Table 3. Efficiency and asymmetry factors for nitrogenous bases and nucleosides, water-soluble vitamins and sugars for column EBPEI-n(B-MEA). Eluent: for nitrogenous bases and nucleosides: CH₃CN – 20 mM ammonium formate buffer solution pH 3.0 (90 : 10, v/v); for vitamins: CH₃CN – 100 mM ammonium formate buffer solution pH 3.0 (93 : 7, v/v) for nicotinamide, В₆ and В₂, (70 : 30, v/v) for В₁₂, С and nicotinic acid; for sugars: CH₃CN – H₂O (85:15, v/v)

Азотистые основания и нуклеозиды			Витамины			Сахара		
Аналит	N, гт/м	As	Аналит	N, гт/м	As	Аналит	N, гт/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'-дезоксириндин	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	—	—	—	—	—	—

разрешению пары гуанин/цитидин уступала фазе ВРЕI-G1 x3 [10]. На новом сорбенте также наблюдали повышение удерживания более гидрофильной аскорбиновой кислоты относительно никотиновой (рис. 2б), что привело к обращению их порядка элюирования по сравнению со всеми тремя фазами на основе ПС-ДВБ [10, 11, 15]. Это является ещё одним свидетельством наилучшей гидрофилизации, обеспеченной сочетанием подходов к экранированию эпоксицированного ПС-ДВБ с помощью ПЭИ и гидрофильных полиэлектролитов. Фаза EBPEI-n(B-MEA) позволила разделить смесь 6 витаминов за 24 мин, как и сорбенты, приведённые в работах [10, 15], в то время как гиперразветвленный [11] – 7 витаминов.

На фазе EBPEI-n(B-MEA) по сравнению с сорбентами с привитым ПЭИ, кватернизованным глициолом, наблюдали рост относительного удерживания дисахаридов. Это привело к увеличению селективности по отношению к ним и одновременному элюированию мальтозы и лактозы. Благодаря высокой α(OH), сорбент EBPEI-n(B-MEA) обеспечил неполное разрешение пар фруктоза/арабиноза и манноза/глюкоза, что было невозможно ранее на сорбентах из работ [10, 11, 15]. В результате, удалось разделить смесь 8 сахаров за 11 мин при повышении температуры колонки до 50°C с использованием элюента, содержащего 20% водной фазы (рис. 2в). Таким образом, получен-

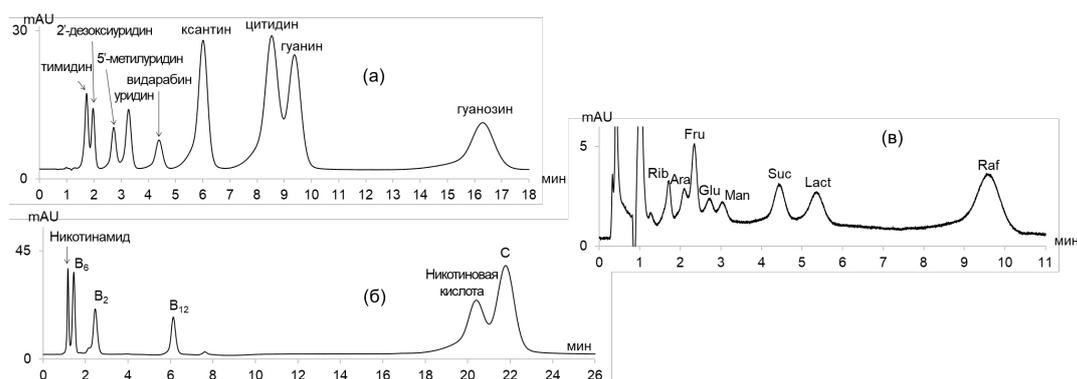


Рис. 2. Хроматограммы модельных смесей азотистых оснований и нуклеозидов (а), витаминов (б) и сахаров (в) на сорбенте ЕВРЕИ-п(В-МЕА). Условия: (а) Элюент: см. табл. 3; УФ-детектирование при 254 нм; (б): Элюент: CH₃CN – 100 мМ аммонийно-формиатный буферный раствор, рН 3.0; градиентное элюирование: 0-3 мин – 15% буферного раствора, 3-4.5 мин – 15-20% буферного раствора, 5.5-7 мин – 20-35% буферного раствора; УФ-детектирование при 270 нм; (в): CH₃CN – H₂O: (80 : 20, об. %); УФ-детектирование при 190 нм, температура колонки: 50 °С. Скорость потока: 1 см³/мин.

Fig. 2. Chromatograms of model mixtures of nitrogenous bases and nucleosides (a), vitamins (b), and sugars (c) on the resin EBPEI-p(B-MEA). Conditions: (a) Eluent: see Table 3; UV detection at 254 nm; (b): Eluent: CH₃CN – 100 mM ammonium formate buffer solution, pH 3.0; gradient elution: 0-3 min – 15% buffer solution, 3-4.5 min – 15-20% buffer solution, 5.5-7 min – 20-35% buffer solution; UV detection at 270 nm; (c): CH₃CN – H₂O: (80 : 20, v/v); UV detection at 190 nm, column temperature: 50 °C. Flow rate: 1 cm³/min.

ный сорбент с привитым ПЭИ и гидрофильными полиэлектролитами обладает повышенными факторами удерживания большинства модельных полярных веществ и наибольшей разделяющей способностью по отношению к сахарам среди описанных в литературе многофункциональных фаз на основе ПС-ДВБ.

Заключение

Таким образом, сочетание способа модифицирования ПС-ДВБ за счёт окисления двойных связей на его поверхности и её гидрофилизации и экранирования путем прививки полиамина и гидрофильных полиэлектролитов, а также полимеризации глицидола, позволило получить высокогидрофильные сорбенты для работы в режимах ИХ с подавлением и ГИХ. В режиме ИХ синтезированные фазы характеризуются сниженным относительным удерживанием галогенуксусных кислот и оксогалогенидов в сравнении с большинством фаз на основе ПС-ДВБ с ковалентно привитым слоем. Тем

не менее, в функциональном слое, полученном за счёт прививки ПЭИ и полиэлектролитов, массоперенос был замедлен, и в результате сорбенты характеризовались низкой эффективностью в режиме ИХ. В то же время, высокая гидрофильность полученных фаз обеспечила повышение их эффективности в режиме ГИХ, а также увеличение факторов удерживания большинства модельных веществ и разделяющей способности по отношению к сахарам по сравнению с ранее описанными в литературе сорбентами на основе ПС-ДВБ. Таким образом, предложенный в данной работе способ гидрофилизации матрицы перспективен для улучшения хроматографических характеристик фаз в гидрофильном режиме и может быть использован при создании сорбентов с повышенной селективностью и эффективностью.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые



могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

Список литературы

1. Wan Q.-H. Mixed-Mode Chromatography Principles, Methods, and Applications. 1 ed. Singapore, Springer. 2021. 482 p.
2. Weiss J. Handbook of ion chromatography. 4 ed. Weinheim, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2016. 1576 p.
3. Chambers T.K., Fritz J.S. Effect of polystyrene-divinylbenzene resin sulfonation on solute retention in high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. A*. 1998. Vol. 797. P. 139-147.
4. Кузнецова О.И., Затираха А.В., Смоленков А.Д., Шпигун О.А., Татаурова О.Г. Новые анионообменники на основе сополимера стирола и дивинилбензола с гидрофильными пространственно удаленными функциональными группами // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2012. Т. 12, № 6. С. 940-948.
5. Liu J., Wang Y., Cheng H., Wang N., Wu S., Zhang P., Zhu Y. High-capacity anion exchangers based on poly (glycidyl-methacrylate-divinylbenzene) microspheres for ion chromatography // *Talanta*. 2016. Vol. 159, P. 272-279.
6. Shen Y., Geng H., Zhang F., Li Z., Yang B. A polyethyleneimine-functionalized polymer substrate polar stationary phase // *J. Chromatogr. A*. 2023. Vol. 1689. Article 463711.
7. 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. Vol. 964, P. 187-194.
8. 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. Vol. 194, pp. 485-492.
9. 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.
10. Горбовская А.В., Попкова Е.К., Ужель А.С., Шпигун О.А., Затираха А.В. Сорбенты на основе полистирол-дивинилбензола с привитым гидрофилизованным полиэтиленимином для ионной и гидрофильной хроматографии // *Журн. аналит. химии*. 2023. Т. 78, № 6. С. 507-519.
11. 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. Vol. 1642, Article 462010.
12. Geng H., Wang Z., Zhang F., Li Z., Yang B. A hyperbranched polyglycerol-functionalized polymer polar stationary phase // *J. Chromatogr. A*. 2022. Vol. 1670, Article 462946.
13. 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. Vol. 209, Article 120525.
14. 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. Vol. 177, pp. 18-25.
15. Горбовская А.В., Попкова Е.К., Ужель А.С., Шпигун О.А. Многофункциональные полимерные неподвижные фазы повышенной гидрофильности с привитым полиэтиленимином и полиглицидолом // *Журн. аналит. химии*. 2024. (В печати.)



16. Zatirakha A.V., Pohl C.A. Hybrid grafted and hyperbranched anion exchangers for ion chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2023. Vol. 1706, Article 464218.

17. 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 эремомицином // *Журн. аналит. химии*. 2023. Т. 78, № 5. С. 438-450.

18. 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. Vol. 1695, Article 463934.

References

1. Wan Q.-H. Mixed-Mode Chromatography Principles, Methods, and Applications. 1 ed. Singapore, Springer, 2021: 482 p. <https://doi.org/10.1007/978-981-16-5485-5>

2. Weiss J. Handbook of ion chromatography. 4 ed. Weinheim, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2016, 1576 p. <https://doi.org/10.1002/9783527651610>.

3. Chambers T.K., Fritz J.S., Effect of polystyrene-divinylbenzene resin sulfonation on solute retention in high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, 1998; 797: 139-147. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)01208-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)01208-9)

4. Kuznetsova O.I., Zatirakha A.V., Smolenkov A.D., Shpigun O.A., Tataurova O.G., Novel anion exchangers based on polystyrene-divinylbenzene with hydrophilic spatially distant functional groups, *Sorbtsionnye i khromatograficheskiye protsessy*, 2012; 12(6): 940-948. (In Russ.)

5. Liu J., Wang Y., Cheng H., Wang N., Wu S., Zhang P., Zhu Y., High-capacity anion exchangers based on poly (glycidyl-methacrylate-divinylbenzene) microspheres for ion chromatography, *Talanta*, 2016; 159:

272-279. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.06.034>

6. Shen Y., Geng H., Zhang F., Li Z., Yang B., A polyethyleneimine-functionalized polymer substrate polar stationary phase, *J. Chromatogr. A*, 2023; 1689: Article 463711. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463711>

7. 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; 964: 187-194.

<https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.01.062>

8. 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; 194: 485-492. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.10.062>

9. Chikurova N.Yu., Gorbovskaia A.V., Stavrianiidi A.N., Fedorova E.S., Shemyakina A.O., Buryak A.K., Uzhel' A.S., Chernobrovkina A.V., Shpigun O.A., Novel adsorbents for the determination of amino acids in soil extracts by hydrophilic interaction liquid chromatography with mass spectrometric detection, *J. Anal. Chem.*, 2023; 78: 922-932.

<https://doi.org/10.1134/S1061934823070043>

10. Gorbovskaia A.V., Popkova E.K., Uzhel' A.S., Shpigun O.A., Zatirakha A.V., Resins based on polystyrene-divinylbenzene with attached hydrophilized polyethyleneimine for ion and hydrophilic interaction liquid chromatography, *J. Anal. Chem.*, 2023; 78: 748-758. <https://doi.org/10.1134/s1061934823060060>

11. 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; 1642: Article 462010. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462010>



12. Geng H., Wang Z., Zhang F., Li Z., Yang B., A hyperbranched polyglycerol-functionalized polymer polar stationary phase, *J. Chromatogr. A*, 2022; 1670: Article 462946. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.462946>
13. 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; 209: Article 120525. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120525>
14. 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; 177: 18-25. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.09.042>
15. Gorbovskaia A.V., Popkova E.K., Uzhel' A.S., Shpigun O.A., Mixed-mode highly hydrophilic polymer-based stationary phases with grafted polyethylenimine and polyglycidol, *J. Anal. Chem.*, 2024; In press.
16. Zatirakha A., Pohl C.A., Hybrid grafted and hyperbranched anion exchangers for ion chromatography, *J. Chromatogr. A*, 2023; 1706: Article 464218. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.464218>
17. Chikurova N.Yu., Prosuntsova D.S., Stavrianidi A.N., Staroverov S.M., Ananieva I.A., Smolenkov A.D., Chernobrovkina A.V., Novel mixed-mode adsorbents for HPLC based on different substrates modified with eremomycin, *J. Anal. Chem.*, 2023; 78: 592-604. <https://doi.org/10.31857/S0044450223050031>
18. 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; 1695: Article 463934. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.463934>

Информация об авторах / Information about the authors

А.В. Горбовская – аспирант, м.н.с. кафедры аналитической химии, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия

А.А. Тимичев – студент кафедры аналитической химии, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия

А.С. Ужель – к.х.н., с.н.с. кафедры аналитической химии, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия

А.В. Чернобровкина – к.х.н., доцент, кафедры аналитической химии, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия

О.А. Шпигун – член-корр. РАН, д.х.н., профессор кафедры аналитической химии, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия

A.V. Gorbovskaia – the postgraduate student, Junior Researcher, department of Analytical chemistry, Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Moscow, Russia

A.A. Timichev – student, department of Analytical chemistry, Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Moscow, Russia

A.S. Uzhel – Senior Researcher, Ph.D (chemistry), department of Analytical chemistry, Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Moscow, Russia, E-mail: anna_uzhel@mail.ru

A.V. Chernobrovkina – associate prof., Ph.D (chemistry), department of Analytical chemistry, Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Moscow, Russia

O.A. Shpigun – prof., Dr. habil. (chemistry), department of Analytical chemistry, Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Moscow, Russia

Статья поступила в редакцию 10.09.2023; одобрена после рецензирования 17.09.2023; принята к публикации 20.09.2023.

The article was submitted 10.09.2023; approved after reviewing 17.09.2023; accepted for publication 20.09.2023.