



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544

doi: 10.17308/sorpchrom.2022.22/9213

Использование субкритической воды в качестве подвижной фазы при анализе методом ВЭЖХ

**Игорь Артемьевич Платонов, Лариса Викторовна Павлова[✉],
Роман Владимирович Шафигулин, Ирина Михайловна Муханова**

Самарский государственный национальный исследовательский университет
имени академика С.П. Королева, Самара, Россия

[✉]lora-pavlova@mail.ru

Аннотация. Целью работы являлось изучение возможности использования в качестве подвижной фазы горячей и субкритической воды при ВЭЖХ анализе смеси ароматических веществ, а также компонентов экстракта расторопши, на колонках со сверхсшитым полистиролом MMN1 и силикагелем, модифицированным октадецильными группами.

ВЭЖХ-анализ модельной смеси бензола и толуола 1:1 по объему на колонке Hypersil GOLD C18 показал сходство элюирующей силы у смеси ацетонитрил : вода 20:80 (% об.) и горячей воды при температуре 90°C. Вода при температуре 125°C по элюационным характеристикам соответствует соотношению ацетонитрил: вода 30:70 (% об.). Число теоретических тарелок при смене водно-ацетонитрильной ПФ на субкритическую воду говорит о снижении ее эффективности примерно на 25-30%. Такая же тенденция прослеживается и при ВЭЖХ анализе других анализов с использованием субкритической воды в качестве ПФ. За счет образования флюидной структуры воды в субкритических условиях происходит изменение давления в системе, обеспечивающее возможность варьирования скорости потока элюента, что отчасти компенсирует размытие пиков. В качестве реального объекта для изучения элюационных характеристик горячей воды на колонке Hypersil GOLD C18 был выбран водный экстракт расторопши, полученный в субкритических условиях при температуре 170°C. Эксперимент проводили при температурах 90°C и 125°C. Температуру анализа в дальнейшем не повышали ввиду ухудшения разделения компонентов анализа, а также из-за низкой термостабильности неподвижной фазы C18. Оптимальные результаты в условиях эксперимента получили при температуре 90°C, при этом полного разделения достичь не удалось.

При ВЭЖХ анализе на колонке Purolite MMN1 в стандартных условиях модельная смесь бензол:толуол:ксилол не элюируется подвижной фазой ацетонитрил:вода 20:80 (об.%). При увеличении концентрации ацетонитрила в ПФ до 80% элюирования компонентов также не произошло. Использование в качестве подвижной фазы субкритической воды при температурах 125°C, 150°C, 170°C не привело к элюированию компонентов с колонки Purolite MMN1. Экстракт расторопши удалось разделить на колонке Purolite с сорбентом MMN1 в стандартных условиях, при этом оптимальные результаты получили с подвижной фазой ацетонитрил : 0,01М фосфатный буфер (pH=3) в соотношении 35:65. Компоненты экстракта расторопши – силибин, силикрестин, селидианин, таксифолин, плохо растворимы в воде, имеют в своей структуре бензольные кольца, но размеры и полярность молекул позволяют избежать в условиях анализа необратимых взаимодействий с неподвижной фазой, как в случае с модельной смесью, возможно в данном случае наблюдается молекулярно-ситовой эффект.

Ключевые слова: ВЭЖХ, субкритическая вода, подвижная фаза, ароматические углеводороды, сверхсшитый полистирол, октадецилсиликагель

Для цитирования: Платонов И.А., Павлова Л.В., Шафигулин Р.В., Муханова И.М. Использование субкритической воды в качестве подвижной фазы при анализе методом ВЭЖХ // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2022. Т. 22, № 2. С. 104-115. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/9213>



Original article

The use of subcritical water as a mobile phase in HPLC analysis

Igor A. Platonov, Larissa V. Pavlova[✉], Roman V. Shafigulin, Irina M. Mukhanova

Korolev Samara National Research University, Samara, Russian Federation

[✉]lora-pavlova@mail.ru

Abstract. The aim of the study was an investigation into the possibility of using hot and subcritical water as a mobile phase in HPLC analysis of a mixture of aromatic substances, as well as milk thistle extract components, on columns with hypercrosslinked polystyrene MMN1 and silica gel modified with octadecyl groups.

The HPLC analysis of a model mixture of benzene and toluene 1:1 by volume on a Hypersil GOLD C18 column showed similar elution strength for a mixture of acetonitrile : water 20:80 (% vol.) and hot water at a temperature of 90°C. Water at a temperature of 125°C according to the elution characteristics corresponded to the ratio of acetonitrile: water 30:70 (% vol.). The number of theoretical plates when changing the water-acetonitrile mobile phase to subcritical water indicates a decrease in its efficiency by about 25-30%. The same trend was observed in the HPLC analysis of other analytes using subcritical water as the mobile phase. Due to the formation of the fluid structure of water under subcritical conditions, the pressure in the system changed, which allows varying the flow rate of the eluent, which partly compensates for the smearing of the peaks. An aqueous extract of milk thistle, obtained under subcritical conditions at a temperature of 170°C, was chosen as an object for studying the elution characteristics of hot water on a Hypersil GOLD C18 column. The experiment was carried out at temperatures of 90 and 125°C. The analysis temperature was not further increased due to the deterioration of the separation of the analyte components, and also because of the low thermal stability of the C18 stationary phase. Optimum results under the experimental conditions were obtained at a temperature of 90°C, while complete separation could not be achieved.

The model mixture of benzene: toluene: xylene was not eluted with a mobile phase of acetonitrile: water 20:80 (vol.%) by HPLC analysis on a Purolite MMN1 column under standard conditions. With an increase in the concentration of acetonitrile in the mobile phase to 80%, the elution of the components also did not occur. The use of subcritical water as a mobile phase at temperatures of 125, 150, 170°C did not lead to elution of the components from the Purolite MMN1 column. The milk thistle extract was separated on a Purolite column with a MMN1 sorbent under standard conditions, while optimal results were obtained with the mobile phase acetonitrile: 0.01M phosphate buffer (pH=3) at a ratio of 35:65. The components of the milk thistle extract - silybin, silicristin, silydianin, and taxifolin are poorly soluble in water, have benzene rings in their structure, but the size and polarity of the molecules allow to avoid irreversible interactions with the stationary phase under the conditions of analysis, as in the case of a model mixture, possibly in this case a molecular sieve effect is observed.

Keywords: HPLC, subcritical water, mobile phase, aromatic hydrocarbons, hypercrosslinked polystyrene, octadecyl silica gel

For citation: Platonov I.A., Pavlova L.V., Shafigulin R.V., Mukhanova I.M. The use of subcritical water as a mobile phase in HPLC analysis. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2022. 22(2): 104-115. (In Russ.). [https://doi.org/ 10.17308/sorpchrom.2022.22/9213](https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/9213)

Введение

В последнее время особый интерес вызывает субкритическая вода как среда, способная заменить многие экологически небезопасные растворители при ВЭЖХ анализе [1]. Изменение физических свойств воды в докритическом состоянии позволяет ей растворять многие органические соединения [1,2]. С изменением

физико-химических свойств воды при повышенных температурах меняются и характеристики воды как элюента для обращенно-фазовой ВЭЖХ, при этом «хроматографические» свойства воды при 100-250°C аналогичны по свойствам смесям метанол-вода или ацетонитрил-вода [1, 3]. За счет использования в качестве подвижной фазы (ПФ) субкритической



воды открываются новые возможности для ВЭЖХ анализа. Так вместо градиента состава ПФ, можно использовать градиент температур. В ряде работ доказана корреляция между повышением температуры анализа и содержанием органического растворителя в ПФ [4,5]. Изменение температуры воды, используемой в качестве подвижной фазы в ВЭЖХ анализе, позволяет легко изменять элюирующую силу без необходимости менять состав подвижной фазы, что способствует лучшему разделению компонентов и повышает селективность анализа [6-8].

В случае работы при повышенных температурах возникают проблемы с подбором неподвижной фазы колонок. Большинство ВЭЖХ-колонок, стабильных при комнатной температуре, могут проявлять нестабильность в условиях перегретой воды. Так наиболее популярные колонки для обращенно-фазовой ВЭЖХ с привитыми октадецильными группами на силикагеле устойчивы при температурах 80-150°C в зависимости от фирмы производителя [5, 9, 10]. Полимерные фазы на основе сополимера полистирол-дивинилбензола (PLRP-S) являются более термостойкими по сравнению с C18 и работают в диапазоне температур 100-200°C [1,5,9]. Для высокотемпературных процессов в ВЭЖХ применяют также материалы на основе оксида циркония и оксида титана, например, углеродистый цирконий (ZirChrom-CARB) используется даже при 370°C, цирконий, инкапсулированный в полибутадиен (ZirChrom-PDB), стабилен до 200°C, полистирол (ZirChrom-PS), стабилен до 300°C [1, 5-12]. Так же в качестве неподвижной фазы для использования при высоких температурах подходят такие материалы как, пористый графитовый углерод при 180-225°C (Hyperscarb PH), полимерные фазы на основе сополимеров стирола и винилпирролидона – колонки PLRP-S, которые имеют полимерную матрицу без привитых фаз, стабильны в широком диапазоне

значений pH, высокой температуре, колонки Oasis используется при температурах 160-210°C [1,11]. Таким образом, использование субкритической воды в практике аналитического контроля сдерживается необходимостью модификации оборудования и не хваткой информации о поведении неподвижных фаз при температурах 70-250°C. Кроме того, существует недостаточность сведений по поводу поведения аналитов в субкритических условиях на конкретных колонках.

Целью работы являлось изучения возможности использования в качестве подвижной фазы горячей и субкритической воды при ВЭЖХ анализе смеси ароматических веществ, а также компонентов экстракта расторопши, на колонках со сверхсшитым полистиролом (ССПС) MMN1 и силикагелем, модифицированным октадецильными группами.

Экспериментальная часть

Анализ методом ВЭЖХ осуществляли на хроматографе Biotronic SIC 800 со спектрофотометрическим детектором при длине волны 254 нм (для модельных смесей), 289 нм (экстракт расторопши).

Разделение осуществляли на колонках: Purolite International Ltd (Великобритания) (150 мм×4.6 мм) с сорбентом MMN1 зернением 5 мкм, со скоростью элюирования 0.4 см³/мин; Thermo electron corporation Hypersil GOLD (150 мм×4 мм) с сорбентом C18 зернением 5 мкм при скорости потока подвижной фазы 1 см³/мин.

Условия ВЭЖХ-анализа. Стандартные условия: температура подвижной фазы при разделении (25±2)°C; объемный расход элюента (0.4-1) см³/мин; давление на выходе из колонки 0.1 МПа. Субкритические условия: температура подвижной фазы при разделении (90-170)°C; объемный расход элюента 1 см³/мин; давление на выходе из колонки 5-7 МПа; давление на входе в детектор 0.1 МПа.

Время удерживания не сорбируемого компонента на колонке Hypersil GOLD при скорости потока 0.4 см³/мин $t_{R0} =$

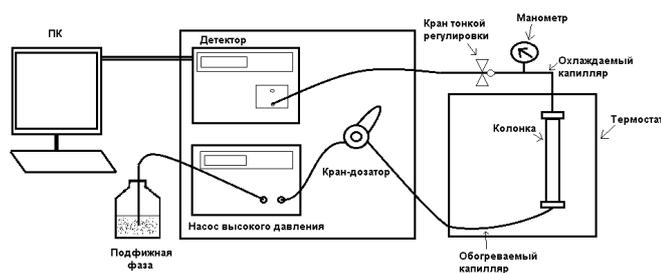


Рис. 1. Схема установки для проведения ВЭЖХ разделения с использованием субкритической воды

Fig. 1. Scheme of the HPLC installation for separation using subcritical water

0.94 мин, при скорости потока $1 \text{ см}^3/\text{мин}$ $t_{R0}=0.35$ мин, которое оценивали по времени выхода слегка видоизмененного состава ПФ.

Для проведения разделения в субкритических условиях схема прибора была модифицирована термостатом, манометром и краном тонкой регулировки (рис. 1).

Приготовление подвижной фазы. Для анализа смеси ароматических углеводов в стандартных условиях в качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрила (компонент А) и воды (компонент В) в соотношении А:В 10:90, 20:80, 30:70 (об.%). Для анализа экстракта расторопши в качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрила и 0.01 М фосфатного буфера в соотношениях 20:80 и 35:65 [13].

В субкритических условиях в качестве подвижной фазы использовали дистиллированную воду. Все подвижные фазы, включая дистиллированную воду, предварительно дегазировали с помощью ультразвуковой ванны.

Изучение элюационных характеристик колонок при использовании субкритической воды качестве ПФ проводили на примере модельных смесей бензола и толуола в объемном соотношении 1:1 и смеси бензола, толуола, м-ксилола в объемном соотношении 5:3:5. Растворы сорбатов готовили растворением стандартных образцов состава в соответствующей подвижной фазе; объем вводимой пробы составлял 20 мкл.

Получение экстракта расторопши пятнистой. Экстракцию водой из плодов расторопши пятнистой проводили по методике, описанной в работе [13,14]. Готовый экстракт поступал через кран дозатор в ВЭЖХ-систему. Объем вводимой пробы 20 мкл.

Расчет параметров удерживания (таблица 1) проводили по формулам, приведенным в [15].

Обсуждение результатов

При проведении ВЭЖХ-анализа модельной смеси бензола и толуола 1:1 на колонке Nupersil GOLD C18 сходство элюирующей силы наблюдалось у смеси ацетонитрил : вода 20:80 (% об.) и горячей воды при температуре 90°C (рисунок 2) (таблица 1). Вода при температуре 125°C по элюационным характеристикам соответствует уже соотношению ацетонитрил:вода 30:70 (% об.). Соответственно, повышение температуры воды аналогично увеличению содержания органического модификатора в составе подвижной фазы. Число теоретических тарелок при смене водно-ацетонитрильной ПФ на субкритическую воду говорит о снижении ее эффективности примерно на 25-30%. Такая же тенденция прослеживается и при ВЭЖХ анализе других аналитов с использованием субкритической воды в качестве ПФ [10].

Сравнительная оценка полученных хроматограмм (рис. 2) показала, что при использовании горячей воды в качестве подвижной фазы происходит небольшое

Таблица 1. Показатели эффективности разделения смеси бензол : толуол 1:1 на колонке Hypersil GOLD в условиях эксперимента

Table 1. Efficiency indicators for the separation of a mixture of benzene: toluene 1: 1 on a Hypersil GOLD column under experimental conditions

Подвижная фаза	Ацетонитрил : вода (25°C)						Вода при температурах			
	10:90		20:80		30:70		90°C		125°C	
Компонент	бен-зол	то-луол	бен-зол	то-луол	бен-зол	то-луол	бен-зол	то-луол	бен-зол	то-луол
Время удерживания $t \pm \Delta$, при $n = 5$, $P = 0,95$, мин	28.1 ± 0.1	89.3 ± 0.2	18.9 ± 0.1	44.7 ± 0.2	7.90 ± 0.05	16.8 ± 0.1	20.6 ± 0.1	51.1 ± 0.2	12.9 ± 0.1	26.3 ± 0.1
Расстояние между максимумами, мин	61.3		25.8		8.9		30.6		13.4	
Ширина оснований, $w \pm \Delta$, при $n = 5$, $P = 0,95$, мин	2.9 ± 0.05	7.5 ± 0.1	1.9 ± 0.05	3.9 ± 0.1	1.10 ± 0.05	1.8 ± 0.05	2.7 $\pm 0,05$	5.2 ± 0.05	2.1 ± 0.05	3.2 ± 0.05
Число теоретических тарелок, $N \pm \Delta$, при $n = 5$, $P = 0,95$	1502 ± 40	2268 ± 50	1583 ± 64	2101 ± 87	824 ± 60	1393 ± 58	931 ± 25	1545 ± 19	604 ± 22	1081 ± 27
Разрешение пиков, R_S	11.8		8.9		4.9		7.8		5.1	
Коэффициент селективности системы, α	3.3		2.4		2.3		2.5		2.1	

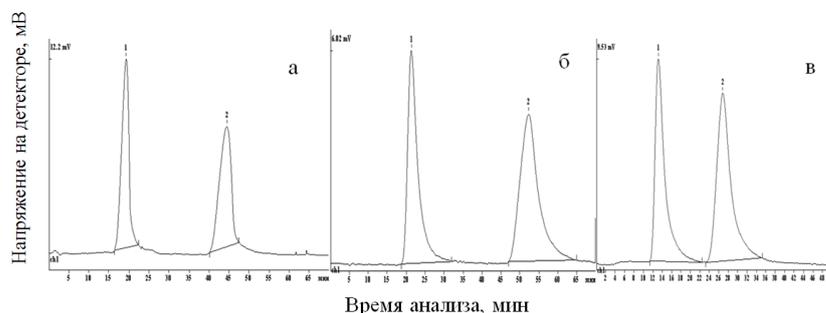


Рис. 2. Хроматограмма ВЭЖХ-анализа смеси бензола (1) и толуола(2) в соотношении по об. (1:1) ПФ – ацетонитрил : вода 20:80 (а), ПФ – вода при $t=90^\circ\text{C}$ (б), ПФ – вода при $t=125^\circ\text{C}$ (в): 1 – бензол; 2 – толуол

уменьшение разрешения пиков (табл. 1), однако селективность системы при смене водно-ацетонитрильной ПФ на водную

остается примерно на одном уровне (таблица 1). Важно отметить и то, что использование воды в качестве ПФ приводит

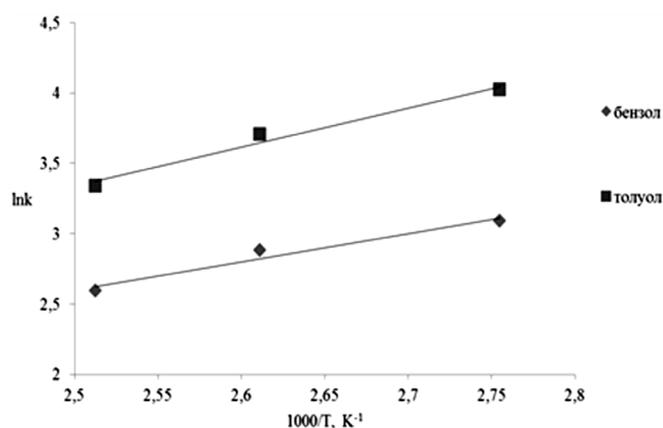


Рис. 3. Температурные зависимости фактора удерживания для исследуемых соединений
 Fig. 3. Temperature dependence of the retention factor for the studied compounds

Таблица 2. Термодинамические параметры для исследуемых модельных смесей
 Table 2. Thermodynamic parameters for the studied model mixtures

Сорбат	Регрессионные уравнения	$-\Delta H^0$, кДж/моль	$ A $	R^2
Бензол	$y=2.0x-2.4$	16.6	2.4	0.96
Толуол	$y=2.8x-3.6$	23.0	3.6	0.98

к увеличению времени удерживания. Однако в субкритических условиях уменьшается давление в системе, обеспечивающее возможность варьирования потока элюента, что отчасти может компенсировать увеличение времени анализа.

Для более точного исследования механизма сорбции бензола и толуола из объемной фазы сверхкритической воды на октадецилсиликагеле целесообразно изучить термодинамические закономерности сорбции. В небольшом интервале температур хроматографического эксперимента зависимость $\ln k$ от $1/T$ линейная и для расчета стандартных термодинамических характеристик можно использовать следующее уравнение [16]:

$$\ln k = -\frac{\Delta H^0}{RT} + \frac{\Delta S^0}{R} + \ln \varphi$$

где ΔH^0 и ΔS^0 – изменение стандартной энтальпии и энтропии процесса перехода сорбата из объемного раствора в фазу сорбента; φ – фазовое отношение хроматографической колонки, равное отношению объема сорбционной фазы к свободному объему колонки ($\varphi = V_s/V_M$); $\left(\frac{\Delta S^0}{R} + \ln \varphi\right) = A$ – энтропийная составляющая

процесса (величина пропорциональная величине изменения стандартной энтропии).

Зависимости линейные в исследуемом диапазоне температур, что позволяет определить термодинамические параметры с высокой точностью (рис. 3, табл. 2). Установлено, что с увеличением температуры факторы удерживания закономерно уменьшаются, и селективность системы незначительно снижается (табл. 1). Аналогичные закономерности наблюдаются и в классическом варианте обращенно-фазовой ВЭЖХ. В таблице 2 приведены рассчитанные термодинамические характеристики процесса перехода модельных сорбатов из объемной фазы в слой сорбента. Величина изменения энтальпии для толуола выше на 7 кДж/моль, по сравнению с бензолом. Это связано с усилением дисперсионных взаимодействий толуола за счет наличия гидрофобной метильной группы. Энтропийный множитель указывает на более локализованную сорбцию толуола при переходе из сверхкритической воды в фазу октадецилсиликагеля. Диапазон величин энтальпий сопоставим с таковыми

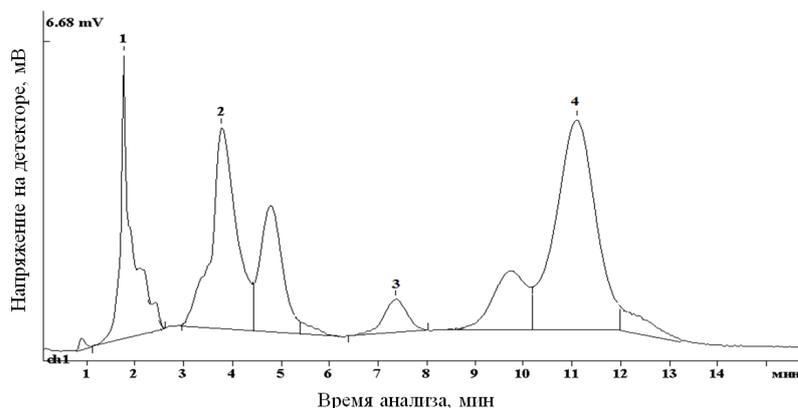


Рис. 4. Хроматограмма, полученная при ВЭЖХ-анализе экстракта расторопши пятнистой на колонке Термо Hypersil GOLD с сорбентом С18, ПФ ацетонитрил : 0.01 М фосфатный буфера (рН=3) 20:80: 1 – таксифолин, 2 – силикрестин, 3 – силидианин, 4 – силибин

Fig. 4. Chromatogram obtained by HPLC analysis of milk thistle extract on a Termo Hypersil GOLD column with C18 sorbent, the mobile phase is acetonitrile: 0.01 M phosphate buffer (pH=3) 20:80: 1 – taxifolin, 2 – silicristin, 3 – silidianin, 4 – silybin

для систем с классическим вариантом ОФ ВЭЖХ [17, 18], что позволяет сделать предположение о том, что сорбция бензола и толуола из водной фазы в сверхкритическом состоянии на октадецилсиликагеле в основном будет определяться дисперсионными взаимодействиями с неполярным сорбентом.

Помимо модельных смесей эксперимент по оценке элюирующих свойств субкритической воды проводили на примере водного экстракта расторопши, полученного в субкритических условиях. В работах [13,14] было показано, что субкритическая вода извлекает из плодов расторопши пятнистой все основные компоненты [19] расторопши пятнистой – таксифолин, силикрестин, силидианин, силибин, которые относятся к флаволигнанам. Оптимальное деление компонентов в стандартных условиях на используемой в эксперименте колонке Termo Hypersil GOLD с сорбентом С18 было получено с ПФ ацетонитрил : 0.01 М фосфатный буфер (рН=3) в соотношении 20:80 (%об.) (рисунок 4).

ВЭЖХ-анализ экстракта расторопши на колонке Termo Hypersil GOLD с сорбентом С18 с использованием горячей воды в качестве ПФ показал близость характеристик разделения компонентов

при использовании в качестве подвижных фаз водно-ацетонитрильных смесей и субкритической воды при различных температурах (рис. 4, 5а). При температуре 125°C не удалось достичь приемлемого разрешения пиков компонентов экстракта расторопши (рисунок 5б), кроме того возросло время анализа, а также произошло уменьшение разрешающей способности и эффективности хроматографической колонки. Понижение температуры ПФ до 90°C привело к улучшению разрешения компонентов экстракта расторопши, однако увеличило время анализа, при этом полного разделения достичь не удалось в условиях проведения эксперимента.

Эксперимент на колонке Termo Hypersil GOLD с сорбентом С18 проводили в диапазоне температур 25-125°C, выше температуру не поднимали во избежание деградации неподвижной фазы колонки [1, 5, 9, 10]. После работы с горячей и субкритической водой для проверки основных элюационных характеристик колонки проводили контрольный эксперимент с модельной смесью бензол : толуол в стандартных условиях, который показал, что эффективность и разрешающая

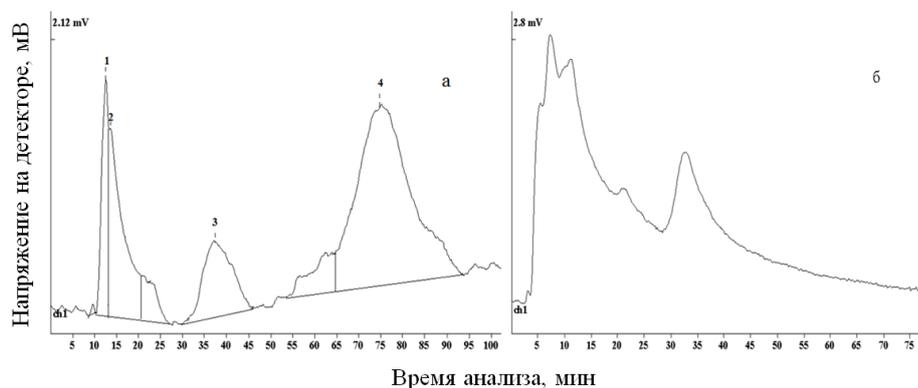


Рис. 5. Хроматограмма, полученная при ВЭЖХ анализе экстракта расторопши на колонке Thermo Hypersil GOLD с сорбентом C18, ПФ субкритическая вода при температуре 90°C (а) и 125°C (б): 1 – таксифолин, 2 – силикрестин, 3 – силидианин, 4 – силибин

Fig. 5. Chromatogram obtained during HPLC analysis of milk thistle extract on a Thermo Hypersil GOLD column with C18 sorbent, the mobile phase is subcritical water at a temperature of 90°C (a) and 125°C (b): 1 – taxifolin, 2 – silicristin, 3 – silydianin, 4 – silybin

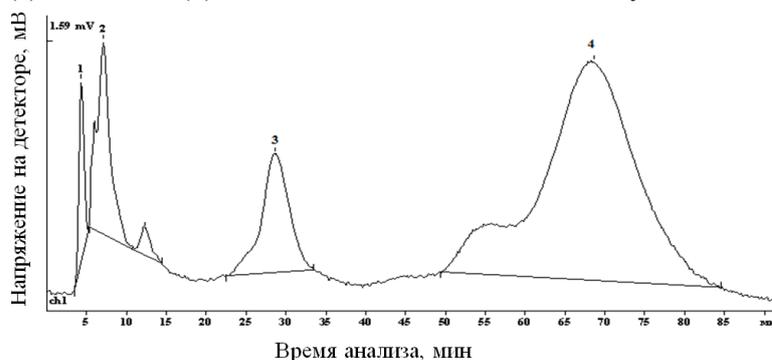


Рис. 6. Хроматограмма, полученная при ВЭЖХ-анализе экстракта расторопши пятнистой на колонке Purolite с сорбентом MMN1, ПФ – ацетонитрил с 0,01М водным раствором фосфатного буфера (рН = 3) в соотношении 35:65: 1-таксифолин, 2 – силикрестин, 3 – силидианин, 4 – силибин

Fig. 6. Chromatogram obtained by HPLC analysis of the milk thistle extract on a Purolite column with MMN1 sorbent, the mobile phase is acetonitrile with 0.01 M aqueous phosphate buffer solution (pH = 3) in a ratio of 35:65: 1 – taxifolin, 2 – silicristin, 3 – silydianin, 4 – silybin

способность воспроизводятся. Изменение времени удерживания и ширины основания пика от анализа к анализу не превышает 1% (таблица 1), эффективность колонки изменяется не значительно, это говорит о том, что в условиях эксперимента изменения параметров удерживания не значительны, что также свидетельствует о стабильности неподвижной фазы колонки.

При ВЭЖХ анализе смеси бензол-толуол-ксилол на колонке Purolite MMN1 в стандартных условиях с ПФ ацетонитрил

: вода 20:80 (об.%) модельная смесь бензол : толуол : ксилол не элюируется. При увеличении концентрации ацетонитрила в ПФ до 80 % элюирования компонентов также не произошло. Использование в качестве подвижной фазы субкритической воды при температурах 125°C, 150°C, 170°C не привело к элюированию компонентов с колонки Purolite MMN1. При сорбции ароматических углеводородов модельной смеси на ССПС MMN1 присутствуют все типы взаимодействий сорбат-сорбент: $\pi \leftrightarrow \pi$, индукционные и

дисперсионные, что приводит к фактически безвозвратному удерживанию данных компонентов на ССПС MMN1. ССПС MMN1 характеризуется наличием микро- и мезо пор [20], согласно литературным данным, позволяет разделять фенольные соединения, изатины [21], которые имеют в своей структуре бензольные кольца. Согласно [21], чем более гидрофобна молекула, тем сильнее она удерживается на данной неподвижной фазе. Учитывая также то, что размеры исследуемых молекул значительно меньше исследуемых в публикациях [20, 21], то в данном случае сильны $\pi \leftrightarrow \pi$ взаимодействия в микропорах. Таким образом, сверхкритическая вода при температурах до 170°C обладает недостаточной элюирующей силой для использования ее в качестве подвижной фазы для анализа ароматических углеводородов на ССПС MNN1. В качестве технических особенностей эксперимента следует заметить, что при повышении температуры анализа, в системе отмечено падение давления, что позволило повысить скорость ПФ с 0.4 до 1 см³/мин, этот эффект можно объяснить понижением вязкости воды [1].

На колонке Purolite с сорбентом MMN1 оптимальные результаты анализа экстракта расторопши в стандартных условиях получили с подвижной фазой ацетонитрил : 0,01М фосфатный буфер (рН = 3) в соотношении 35:65 (рисунок 6). Компоненты экстракта расторопши – силибин, силикристин, селидианин, таксифолин, плохо растворимы в воде, имеют в своей структуре бензольные кольца, но размеры и полярность молекул позволяет избежать в условиях анализа необратимых взаимодействий с неподвижной фазой, как в случае с модельной смесью. Возможно, в данном случае наблюдается молекулярно-ситовый эффект. На хроматограмме, полученной при анализе экстракта расторопши на колонке Purolite, заметно уширение оснований пиков для селидианина и силибина по сравнению с

анализом на колонке с C18. Выход последнего компонента осуществляется в течение 30 мин, что, конечно, свидетельствует о сильных взаимодействиях сорбат-сорбент. При этом таксифолин и силикристин практически не разделились. Основной особенностью сорбента на основе ССПС по сравнению с кремнеземным является большая величина его удельной поверхности (1000-1500 м²/г). Факторы удерживания исследованных соединений для ССПС оказываются примерно в 3-4 раза больше, чем на C18 [22].

Анализ экстракта расторопши на колонке Purolite с сорбентом MMN1 с горячей водой в качестве подвижной фазы проводили при температуре 100, 125, 150, 170°C. Установлено, что элюирующей силы субкритической воды ни при одной из температур оказалась недостаточно для вымывания компонентов расторопши пятнистой.

Заключение

В результате проведенной работы было установлено, что субкритическая вода может использоваться в качестве подвижной фазы для разделения бензола и его производных на колонке с фазой C18. Результаты, полученные при температуре анализа 90°C и давлении 5МПа сопоставимы с результатами разделения в стандартных условиях с использованием в качестве подвижной фазы смеси ацетонитрила с водой в соотношении 20:80.

Оптимальные результаты по разделению модельной смеси ароматических углеводородов получены при элюировании субкритической водой при температуре 125°C.

Установлено, что субкритическую воду возможно использовать в качестве подвижной фазы при анализе экстракта расторопши методом ВЭЖХ на колонке с сорбентом C18 при температуре 90°C, при этом наблюдается значительное увеличение времени анализа.

Колонка со сверхсшитым полистиролом MMN1 может использоваться скорее



для извлечения бензола и его производных из смеси, чем для ВЭЖХ-анализа с использованием субкритической воды в качестве подвижной фазы.

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. Борисова Д.Р., Статкус М.А., Цизин Г.И., Золотов Ю.А. Вода в субкритическом состоянии: применение в химическом анализе // *Журнал аналитической химии*. 2017. Т. 72. № 8. С. 699-713.
2. Bahari, A. A thesis submitted to the University of Birmingham for the degree of doctor of philosophy: 11.2010 . University of Birmingham, 2010. 235 p.
3. Smith R.M. Superheated water: the ultimate green solvent for separation science // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2006. Vol. 385(3). P. 419-421.
4. Kondo T., Yang Yu, Lamm L. Вода в субкритическом состоянии: применение в химическом анализе // *Analytica Chimica Acta*. 2002. Vol. 460. P. 185-191.
5. Dembek M., Vocian S. Pure water as a mobile phase in liquid chromatography techniques // *Trends in Analytical Chemistry*. 2020. Vol. 123. 115793.
6. Edge T., Wilson I.D., Shillingford S. Thermal Gradients for the Control of Elution in RP-LC: Application to the Separation of Model Drugs // *J. Chromatographia*. 2007. Vol. 66(11). P. 831-836.
7. Allmon S.D., Dorsey J.G. Properties of subcritical water as an eluent for reversed-phase liquid chromatography-Disruption of the hydrogen-bond network at elevated temperature and its consequences // *J. Chromatography A*. 2010. Vol. 1217. P. 5769-5775.
8. Tiisonen J., Peuha E.-L., Latva-Kokko M., Silander S., Paatero E. Water as an eluent for chromatographic separation of carbohydrates using ion exchangers // *Separation*

and Purification Technology. 2005. Vol. 44. P. 166-174.

9. Saha S., Smith R.M., Lenz E., Wilson I.D. Analysis of a ginger extract by high-performance liquid chromatography coupled to nuclear magnetic resonance spectroscopy using superheated deuterium oxide as the mobile phase // *J. Chromatogr. A*. 2003. Vol. 991(1). P.143.

10. Ninad Doctor, Yang Yu. Molecules Separation and Analysis of Aspirin and Metformin HCl Using Green Subcritical Water Chromatography // *Molecules*. 2018. Vol. 23. 2258.

11. Hartonen K., Riekkola M.-L. Liquid chromatography at elevated temperatures with pure water as the mobile phase // *Trends in Analytical Chemistry*. 2008. Vol. 27(1). P. 1-14.

12. Fields S.M., Ye C.Q., Zhang D.D., Branch B.R., Zhang X.J., Okafo N. Superheated water as eluent in high-temperature high-performance liquid chromatographic separations of steroids on a polymer-coated zirconia column // *J. Chromatogr. A*. 2001. Vol. 913. P. 197-204.

13. Никитченко Н.В. Дисс.канд.хим. наук. Самара. 2012. 138 с.

14. Никитченко Н.В., Платонов И.А. Современные экстракционные способы подготовки проб растительных материалов к анализу. Самара: ООО «Портопринт». 2016. 105 с.

15. Вигдергауз М.С., Платонов И.А. Новикова Е.А., Платонов В.И. Азбука хроматографии. Самара: ООО «Портопринт». 2012. 72 с.

16. Pietrogrande M.C., Benvenuti A., Dondi F. Temperature effect on HPLC retention of PCBs on porous graphitic carbon // *J.Chromatographia*. 2000. Vol. 51. no 3/4. P. 193.

17. Shafigulin R.V., Bulanova A.V. Thermodynamics of the Sorption of Benzimidazoles on Octadecyl Silica Gel from Water–Methanol Eluents // *Russ. J. Phys. Chem*. 2018. Vol. 92. P. 220-225.



18. Сайфутдинов Б.Р. Зависимости среда-свойство и компенсационный эффект при адсорбции гетероароматических соединений из водно-ацетонитрильных растворов // Изв. АН. Сер.хим. 2014. № 12. С. 2609.

19. Куркин В.А. Фармакогнозия. Самара: ООО «Офорт» ГОУВПО «СамГМУ Росздрава». 2007. 1239 с.

20. Platonov I.A., Novikova E.A., Nikitchenko N. V., Roschupkina I.Y. Caprolactam and nitrobenzene desorption from polymeric sorbents by subcritical water // *Russian Journal of Physical Chemistry B*. 2013. Vol. 7. Iss. 8. P. 938-942.

21. Власова Ю.В., Шафигулин Р.В., Буланова А.В., Пурьгин П.П., Туманин А.Н. Сорбция производных изатина сверхкритическими полистиролами из водно-органических растворов // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2011. Т. 11. № 5. С 725-731.

22. Прокопов С.В., Фролова И.В., Курбатова С.В. Влияние состава элюента на удерживание сверхкритическим полистиролом в ОФ ВЭЖХ // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2012. Т. 12. № 3. С. 370-379.

References

1. Borisova D.R., Statkus M.A., Tsizin G.I., Zolotov Yu.A. Voda v subkriticheskom sostoyanii: primeneniye v khimicheskom analize. *J. of Analytical Chemistry*. 2017; 72(8): 699-713. (In Russ.).

2. Bahari A. A thesis submitted to the University of Birmingham for the degree of doctor of philosophy: 11.2010 . University of Birmingham. 2010. 235 p.

3. Smith R.M., Superheated water: the ultimate green solvent for separation science. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2006; 385(3): 419-421. <https://hdl.handle.net/2134/2272>

4. Kondo T., Yang Yu, Lamm L., Separation of polar and non-polar analytes using dimethyl sulfoxide-modified subcritical water. *Analytica Chimica Acta*. 2002; 460: 185-191.

5. Dembek M., Bocian S., Pure water as a mobile phase in liquid chromatography techniques. *Trends in Analytical Chemistry*, 2020; 123: 115793. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115793>.

6. Edge T., Wilson I.D., Shillingford S. Thermal Gradients for the Control of Elution in RP-LC: Application to the Separation of Model Drugs *J. Chromatographia*. 2007; 66(11); 831-836. <https://doi.org/10.1365/s10337-007-0433-1>

7. Allmon S.D., Dorsey J.G. Properties of subcritical water as an eluent for reversed-phase liquid chromatography-Disruption of the hydrogen-bond network at elevated temperature and its consequences. *J. Chromatography A*. 2010; 1217: 5769-5775. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.07.030>.

8. Tiihonen J., Peuha E.-L., Latva-Kokko M., Silander S., Paatero E. Water as an eluent for chromatographic separation of carbohydrates using ion exchangers. *Separation and Purification Technology*. 2005; 44: 166-174.

9. Saha S., Smith R.M., Lenz E., Wilson I.D. Analysis of a ginger extract by high-performance liquid chromatography coupled to nuclear magnetic resonance spectroscopy using superheated deuterium oxide as the mobile phase. *J. Chromatogr. A*. 2003; 991(1): 143.

10. Ninad Doctor, Yang Yu. Molecules Separation and Analysis of Aspirin and Metformin HCl Using Green Subcritical Water Chromatography. *Molecules*. 2018; 23: 2258 [doi:10.3390/molecules23092258](https://doi.org/10.3390/molecules23092258)

11. Hartonen K., Riekkola M.-L., Liquid chromatography at elevated temperatures with pure water as the mobile phase. *Trends in Analytical Chemistry*. 2008; 27(1): 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.10.010>.

12. Fields S.M., Ye C.Q., Zhang D.D., Branch B.R., Zhang X.J., Okafo N. Superheated water as eluent in high-temperature high-performance liquid chromatographic separations of steroids on a polymer-coated zirconia column. *J. Chromatogr. A*. 2001; 913: 197-204. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)01246-2](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)01246-2).



13. Nikitchenko N.V. Diss. cand. chem. nauk. Samara. 2012. 138 p. (In Russ.).
14. Nikitchenko N.V., Platonov I.A. Sovremennyye ekstraktsionnyye sposoby podgotovki prob rastitel'nykh materialov k analizu. Samara. ООО «Porto-print» Publ. 2016, 105 p. (In Russ.).
15. Vigdergauz M.S., Platonov I.A., Novikova E.A., Platonov V.I. ABC of Chromatography Samara. ООО «Porto-Print» Publ. 2012. 72 p. (In Russ.).
16. Pietrogrande M.C., Benvenuti A., Dondi F. Temperature effect on HPLC retention of PCBs on porous graphitic carbon. *Chromatographia*. 2000; 51(3/4): 193.
17. Shafigulin R.V., Bulanova A.V. Thermodynamics of the Sorption of Benzimidazoles on Octadecyl Silica Gel from Water-Methanol Eluent. *Russ.J.Phys.Chem.* 2018; 92: 220-225. <https://doi.org/10.1134/S003602441802019X>
18. Saifutdinov B.R. Zavisimosti sredasvoystvo i kompensatsionnyy effekt pri adsorbtsii geteroaromaticheskikh soyedineniy iz vodno-atsetonitril'nykh rastvorov. *Izv. AN. Ser.chem.* 2014; 12: 2609. (In Russ.).
19. Kurkin V.A. Farmakognoziya. Samara. ООО «Ofort» Publ. GOUVPO «SamGMU Roszdrava». 2007. 1239 p. (In Russ.).
20. Platonov I.A., Novikova E.A., Nikitchenko N.V., Roschupkina I.Y. Caprolactam and nitrobenzene desorption from polymeric sorbents by subcritical water. *Russian Journal of Physical Chemistry B*. 2013; 7(8): 938-942.
21. Vlasova Yu.V., Shafigulin R.V., Bulanova A.V., Purygin P.P., Tumanin A.N. Sorbtsiya proizvodnykh izatina sverkhsshitymi polistiroлами iz vodno-organicheskikh rastvorov. *Sorbtsionnye I khromatograficheskiye protsessy*. 2011; 11(5): 725-731. (In Russ.).
22. Prokopov S.V., Frolova I.V., Kurbatova S.V. Vliyaniye sostava elyuyenta na uderzhivaniye sverkhsshitym polistiroлом v OF VEZHKH. *Sorbtsionnye I khromatograficheskiye protsessy*. 2012; 12(3): 370-379. (In Russ.).

Информации об авторах / Information about the authors

И.А. Платонов – профессор кафедры химии, д.т.н., заведующий кафедрой химии Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королева, Самара, Россия

Л.В. Павлова – к.х.н., доцент кафедры химии Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королева, Самара, Россия

Р.В. Шафигулин – к.х.н., доцент кафедры физической химии и хроматографии Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королева, Самара, Россия

И.М. Муханова – к.х.н., доцент кафедры химии Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королева, Самара, Россия

I.A. Platonov – prof., grand Ph.D (technical sciences), Head of the department of chemistry, Samara National Research University, Samara, Russian Federation, e-mail: pia@ssau.ru

L.V. Pavlova – Ph.D (chemistry), associate prof., Department of chemistry, Samara National Research University, Samara, Russian Federation, e-mail: lora-pavlova@mail.ru

R.V. Shafigulin – Ph.D (chemistry), associate prof., Department of physical chemistry and chromatography, Samara National Research University, Samara, Russian Federation, e-mail: shafiro@mail.ru

I.M. Mukhanova – Ph.D (chemistry), associate prof., Department of chemistry, Samara National Research University, Samara, Russian Federation, e-mail: mim042004@mail.ru

Статья поступила в редакцию 24.01.2022; одобрена после рецензирования 23.03.2022; принята к публикации 29.03.2022.

The article was submitted 24.01.2022; approved after reviewing 23.03.2022; accepted for publication 29.03.2022.