

## ПОЛИМЕРНОЕ МОДИФИЦИРОВАНИЕ СИЛИКАГЕЛЯ ДЛЯ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ КОЛОНОК

© С. С. Айрапетян<sup>1,2</sup>, Л. С. Айрапетян<sup>1,\*</sup>, А. С. Хачатрян<sup>3</sup>, А. Г. Хачатрян<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ереванский государственный университет,

Республика Армения, 0025, г. Ереван, ул. Алека Манукяна, д. 1

<sup>2</sup> Институт общей и неорганической химии (ИОНХ) им. М. Г. Манвеляна,

Республика Армения, 0051, г. Ереван, ул. О. Аргутян, 2-й пер., д. 10

<sup>3</sup> Лаборатория пищевой безопасности МО РА,

Республика Армения, 0046, г. Ереван, ул. Аршакуняц, д. 73а

\* E-mail: lusinehayrapetyan@ysu.am

Поступила в Редакцию 10 января 2024 г.

После доработки 13 февраля 2025 г.

Принята к публикации 13 февраля 2025 г.

*Исследована зависимость хроматографических показателей колонок, упакованных полимерно-минеральными сорбентами, от полимерного модифицирования силикагеля в режиме обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ). Проведено сравнение обычных широко используемых колонок для ВЭЖХ (в частности, колонок Waters Symmetry C18) и приготовленных нами колонок, упакованных сорбентом на основе силикагеля с нанесенным слоем сополимера полиоктадецил-метакрилат–бутилакрилат–малеиновый ангидрид. Методом ЯМР <sup>1</sup>H показано, что функциональные группы, содержащиеся в компонентах сополимера, действительно фиксируются на поверхности силикагелевого носителя. Путем подобного модифицирования получены сорбенты, которые могут быть использованы при повышенных pH.*

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография; полимерное модифицирование; октадецилметакрилат; бутилакрилат; малеиновый ангидрид; кривая Ван-Деемтера; силикагель; хроматографические колонки

DOI: 10.31857/S0044461825010037; EDN: LJZTUV

Большинство современных силикагелей, используемых в ВЭЖХ, синтезируют путем поликонденсации мономеров алкоксисиланов, что в итоге приводит к образованию в процессе синтеза силикагеля с силоксановыми связями (Si—O—Si) и различными концевыми силанольными группами (—Si—OH) на поверхности [1].<sup>1,2</sup> Наиболее используемым типом

сорбентов для высокоэффективной жидкостной хроматографии является пористый кремнезем, поверхность которого модифицирована углеводородными радикалами [2].<sup>3</sup>

Модифицирование пористого кремнезема органическими соединениями с различными функциональными группами занимает особое место при дизайне

<sup>1</sup> Vitha M. F. Chromatography: Principles and Instrumentation. Hoboken, NJ: Wiley, Hoboken, NJ: Wiley & Sons, 2017. P. 149–151.

<sup>2</sup> Neue U. D. HPLC Columns. Theory, Technology, and Practice. NY: Wiley-VCH, 1997. P. 191–205.

<sup>3</sup> Neue U. D., Alden B. A., Grover E. R., Grumbach E. S., Iraneta P. C., Méndez A. 3 HPLC columns and packings // Sep. Sci. Technol. 2007. V. 8. P. 45–83.  
[https://doi.org/10.1016/S0149-6395\(07\)80009-2](https://doi.org/10.1016/S0149-6395(07)80009-2)

колонок для ВЭЖХ. Силанольные группы играют ключевую роль в процессе модификации поверхности силикагеля рядом модификаторов (в частности, алкилхлорсиланов) [3]. Обязательным является наличие силанольных групп, привитых к поверхности полученных фаз. В то же время при разделении основных соединений проявляется асимметрия пиков, вызванная силанольным взаимодействием, а также наблюдается более узкий диапазон значений pH в основной среде [4, 5].

Поверхность модифицированных неподвижных фаз на основе кремнезема обычно содержит остаточные силанольные группы, которые не могут быть заблокированы из-за стерических эффектов связанных лигандов [6, 7]. Для устранения силанольных взаимодействий в сорбентах на основе силикагеля используются различные методы. Авторы работы считают, что инкапсуляция поверхности кремнезема полимерами является более надежным способом.

В последнее время стали доступны новые гибридные сорбенты, стабильные в широком диапазоне pH (до pH 12), обладающие при этом характеристиками удерживания, идентичными классическим колонкам на основе диоксида кремния [8].

Цель работы — оценка возможности использования модифицированных неподвижных фаз для разделения соединений основного характера в режиме обращенно-фазовой высокоэффективной хроматографии.

### Экспериментальная часть

*Хроматографические исследования.* Тестовая смесь: урацил ( $16 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ ) ( $\geq 99.0\%$ , Sigma-Aldrich) в качестве маркера мертвого объема колонки; аценафтен ( $200 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ ) ( $99.0\%$ , Sigma-Aldrich) в качестве гидрофобного маркера; бутилпарабен ( $20 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ ) [European Pharmacopoeia (EP) Reference Standard]; дипропилфталат ( $340 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ ) ( $98\%$ , Sigma-Aldrich) как полярная проба; пиридин ( $\geq 99.0\%$ , Sigma-Aldrich ACS reagent); N,N-диметиланилин ( $99\%$ , Sigma-Aldrich, ReagentPlus®); пропранолол ( $400 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ ) (Supelco, HPLC suitable); амитриптилин ( $100 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ ) [ $\geq 98.0$  (TLC), Sigma-Aldrich, powder)] как основная проба.

### Синтез сорбента

*Приготовление сополимера октадецилметакрилат–бутилакрилат.* Октадецилметакрилат ( $30.0 \text{ г}$ ) ( $\geq 96.0\%$ , Alfa Chemistry), твердый при комнатной температуре, растворяли вместе с дикумилпероксидом ( $0.25 \text{ г}$ ) ( $98\%$ , Sigma-Aldrich) в бутилакрилате

( $10.0 \text{ г}$ ) (Sigma-Aldrich), нагревали с обратным холодильником в течение 3 ч и охлаждали. Образующийся олигомер (75% октадецилметакрилат–метилметакрилат–25% бутилакрилат) растворим в н-пентане [9].

*Покрывание силикагелевого сорбента полимером.* Микросферический силикагель типа Symmetry Waters (масса  $5 \text{ г}$ ) со следующими каталожными характеристиками:  $S_{\text{уд}} = 100.0 \text{ м}^2 \cdot \text{г}^{-1}$ ,  $V_{\text{об.пор}} = 1.00 \text{ см}^3 \cdot \text{г}^{-1}$ , средний диаметр пор ( $d_{\text{cp}}$ )  $30 \text{ нм}$ , размер частиц  $5 \text{ мкм}$  — добавляли к раствору олигополимера и дикумилпероксида ( $1.50 \text{ г}$  и  $50 \text{ мг}$  соответственно) в  $15 \text{ мл}$  н-пентана (Supelco, for gas chromatography ECD and FID SupraSolv®).

Последующее испарение растворителя осуществляли в ротационном испарителе. Полученный таким образом сухой порошок помещали в герметично закрываемую емкость и подвергали термической обработке. Первоначально температуру повышали до  $100^\circ\text{C}$  в течение  $0.5 \text{ ч}$ , затем выдерживали при этой температуре еще  $1.5 \text{ ч}$ , затем нагревали до  $130^\circ\text{C}$  в течение  $0.5 \text{ ч}$  и снова выдерживали при этой температуре еще  $2 \text{ ч}$ . Полученный сорбент промывали горячей смесью диметилформамида ( $\geq 99.9\%$ , Sigma-Aldrich, Suitable for HPLC) в толуоле ( $\geq 99.9\%$ , Sigma-Aldrich, HPLC suitable) ( $1:1$ ), этанолом (Sigma-Aldrich, testified according to Ph. Eur), затем ацетоном ( $\geq 99.8\%$ , Sigma-Aldrich, HPLC suitable). Сушку образцов проводили в сушильном шкафу при температуре  $120^\circ\text{C}$  в течение  $2 \text{ ч}$ .

Первый полимерный слой, содержащий сополимер октадецилметакрилат–бутилакрилат и дикумилпероксид, наносили на диоксид кремния, как описано выше. Затем добавляли раствор малеинового ангидрида в ацетоне. Карбоксильные группы в поверхностном слое полимера образовывались в результате гидролиза малеинового ангидрида ( $99\%$ , Sigma-Aldrich). Растворитель удаляли на ротационном испарителе, после чего проводили полимеризацию путем термической обработки, как описано выше. Массовое соотношение октадецилметакрилат–бутилакрилат в олигомере  $4:1$ , массовое соотношение олигомер:малеиновый ангидрид —  $10:1$ . Количество полимера, нанесенного на поверхность микросферического силикагеля, определяли гравиметрически.

### Обсуждение результатов

В качестве критерия работы колонки при повышенных pH определяли поведение пика пиридина. Если время удерживания пиридина меньше, чем таковое для фенола, то колонки могут работать при повышенных pH, поскольку такой тест указывает на отсутствие свободных силанольных групп на поверх-

ности силикагелевого сорбента, так как именно эти группы подвержены разрушению при повышенных значениях pH.

На приготовленных нами колонках время удерживания пиридина меньше, чем таковое для фенола (табл. 1). На наш взгляд, нанесение полимера устраняет силанольное взаимодействие.

При использовании подвижной фазы с pH 12.0 пики *n*-бутилбензойной кислоты и урацила появляются на 1.29 мин, пик пиридина — 1.68 мин и перед пиком фенола (1.82 мин), пик N,N-диметиланилина — 3.46 мин, пик толуола — 4.28 мин (табл. 1). Появление пика пиридина через 1.68 мин после локализации карбоксильных групп (щелочной гидролиз при pH 12.0) свидетельствует о том, что полимерное покрытие практически полностью экранирует силанольные группы на поверхности микросферического силикагеля (табл. 1).

После обработки кислотным элюентом и восстановления карбоксильных групп на поверхности наблюдается следующая картина (табл. 1): пик пиридина не идентифицируется, пики *n*-бутилбензойной кислоты, толуола и N,N-диметиланилина смещаются в сторону больших времен удерживания (3.31, 5.57 и 6.13 мин соответственно). Гидролиз малеинового ангидрида в полимерной композиции приводит к появлению на поверхности карбоксильных групп наряду с C<sub>18</sub>-группами. Они придают поверхности сорбентов катионообменные свойства.

Разделение основных соединений на таких сорбентах возможно, несмотря на наличие карбоксильных групп на поверхности. При этом пик пиридина появляется значительно раньше пика фенола, а амитриптилин выходит на 35.69 мин с хвостовым фактором всего 1.18 (табл. 2).

Эффективность полученной колонки в 1.5–3 раза ниже по сравнению с колонками, получаемыми общепринятым способом с использованием алкилсиланов.

Полимерное покрытие было нанесено на сорбент с удельной поверхностью 100 м<sup>2</sup>·г<sup>-1</sup>. В результате его хроматографические показатели стали сопоставимыми со свойствами сорбента с удельной поверхностью 300 м<sup>2</sup>·г<sup>-1</sup>, модифицированного октадецилсиланом (C<sub>18</sub>), т. е. полимерное покрытие позволяет фиксировать на поверхности более широкопористого силикагеля октадецильные функциональные группы, которые обеспечивают сопоставимые времена удерживания. Одним из преимуществ новой неподвижной фазы в сравнении с имеющимися является то, что хвостовой фактор перед таковым для известной колонки Symmetry 100 C<sub>18</sub> уменьшается с 1.86 до 1.18. Т — «хвостовой» фактор (tailing factor) также характеризует асимметрию пика.

Поведение нафталина и аценафтена как гидрофобных маркеров вполне ожидаемо (табл. 2). В хроматографическом процессе участвует определенное число групп C<sub>18</sub>. Так, для Symmetry Si 100 C<sub>18</sub> %C = 21, а для Symmetry Si 300 октадецилметакрилат–бутил-акрилат–малеиновый ангидрид %C = 13.26, поэтому наблюдается снижение значений времени выхода пиков нафталина и аценафтена.

Время удерживания пропранолола на колонке Symmetry C<sub>18</sub> составляет 2.47 мин, тогда как на колонке Symmetry Si 300 октадецилметакрилат–бутил-акрилат–малеиновый ангидрид оно увеличивается до 24.59 мин, причем «хвостовой» фактор имеет низкое значение 1.35. Поскольку пропранолол является веществом основного характера, на наш взгляд, следует учитывать его взаимодействие с карбоксильными группами.

Мертвый объем колонки складывается из следующих параметров сорбента и колонки: общего объема пор сорбента, межчастичного пространства в плотноупакованной колонке, внеколоночного объема (внутренний объем соединительных капилляров). Объем полимерного компонента на поверхности

Таблица 1

Время удерживания компонентов тестовой смеси на колонке Symmetry Si-300 октадецилметакрилат–бутилакрилат–малеиновый ангидрид, 150 × 4.6 мм

Подвижная фаза	Время удерживания пиков, мин					
	урацил	пиридин	фенол	N,N-диметиланилин	<i>n</i> -бутилбензойная кислота	толуол
Ацетонитрил — 50 мкМ фосфатный буферный раствор, pH 7.0	1.50	2.07	2.12	6.87	1.59	6.06
Ацетонитрил — 50 мкМ фосфатный буферный раствор, pH 12.0	1.29	1.68	1.82	3.46	1.23	4.28
Ацетонитрил:(0.1% H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ) = 50:50	1.56	—	2.07	6.13	3.31	5.57

Таблица 2

Хроматогафические параметры колонок

Элюент — метанол/фосфатный буферный раствор [20 мМ K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/20 мМ K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7.0 (65/35)]

Компонент тестовой смеси	Время удерживания, мин		«Хвостовой» фактор		Эффективность, теоретических тарелок	
	Symmetry 100 C <sub>18</sub>	Symmetry Si 300– октадецилметакрилат– бутилакрилат– малеиновый ангидрид	Symmetry Si 100 C <sub>18</sub>	Symmetry Si 300– октадецилметакрилат– бутилакрилат– малеиновый ангидрид	Symmetry Si 100 C <sub>18</sub>	Symmetry Si 300– октадецилметакрилат– бутилакрилат– малеиновый ангидрид
Урацил	1.09	1.49	—	—	—	—
Пропранолол	2.47	24.59	1.15	1.35	3985	2762
Бутилпарабен	3.56	2.31	1.13	1.17	6108	2687
Нафталин	8.10	5.45	1.11	1.12	9558	6001
Дипропилфталат	6.66	2.42	1.12	1.15	7498	2896
Аценафтен	19.78	10.95	1.06	1.07	9356	5401
Амитриптилин	23.58	35.69	1.86	1.18	6332	3102
Пиридин	1.35	2.01	1.86	1.23	2524	3695
Фенол	1.57	2.07	1.18	1.24	8169	3411

кремнезема превышает общий объем C<sub>18</sub>-групп. Это в свою очередь понижает значение среднего объема пор упаковочного материала, что также может быть причиной уменьшения значений мертвого объема колонки. Однако мертвый объем колонки увеличивается. Другая составляющая мертвого объема — межчастичное пространство в колонке. О том, что упаковка микросферического силикагеля с полимерным покрытием неэффективна (наблюдается для колонок, упакованных с C<sub>18</sub>-фазой), свидетельствуют значения давления в колонках с полимерными фазами (соответственно 1157 psi для колонок, упакованных C<sub>18</sub>, и 782 psi для колонок, упакованных полимером октадецилметакрилат–бутилакрилат–малеиновый ангидрид). Нельзя исключать, что недостаточно эффективная упаковка микросферического силикагеля приводит к увеличению мертвого объема, что обусловлено увеличением межчастичного пространства. Тем не менее увеличение мертвого объема не может быть объяснено только этим. Между молекулами урацила и полимерными фазами существуют определенные взаимодействия, и урацил не может служить для характеристики мертвого объема.

Полимерная пленка с такими функциональными группами, как октадецилметакрилат, бутилакрилат, карбоксил, фиксируется на поверхности силикагеля;

доказательством тому служат соответствующие пики, наблюдаемые на <sup>1</sup>H ЯМР-спектре (рис. 1).

Безразмерную высоту эффективной теоретической тарелки (*h*) рассчитывали по формуле

$$h = H/d_p,$$

где *H* — высота эффективной теоретической тарелки, *d<sub>p</sub>* — диаметр частиц.

Безразмерную линейную скорость подвижной фазы *v* рассчитывали по формуле

$$v = ud_p/D_M,$$

где *u* — линейная скорость подвижной фазы, *d<sub>p</sub>* — диаметр частиц и *D<sub>M</sub>* — коэффициент диффузии в подвижной фазе (рис. 2).

Кривизна правой части кривой в случае Symmetry Si 300 октадецилметакрилат–бутилакрилат–малеиновый ангидрид больше, чем таковая для Symmetry Si C<sub>18</sub>. Линейная зависимость правой части кривой для колонки Symmetry Si C<sub>18</sub> характеризуется уравнением  $y = 0.0373x + 1.5737$ , а для колонки Symmetry Si 300 октадецилметакрилат–бутилакрилат–малеиновый ангидрид —  $y = 0.1211x + 1.3328$ . По всей видимости, полимерная составляющая сорбента имеет собственную пористость, которая и определяет вид кривой Ван-Деемтера.

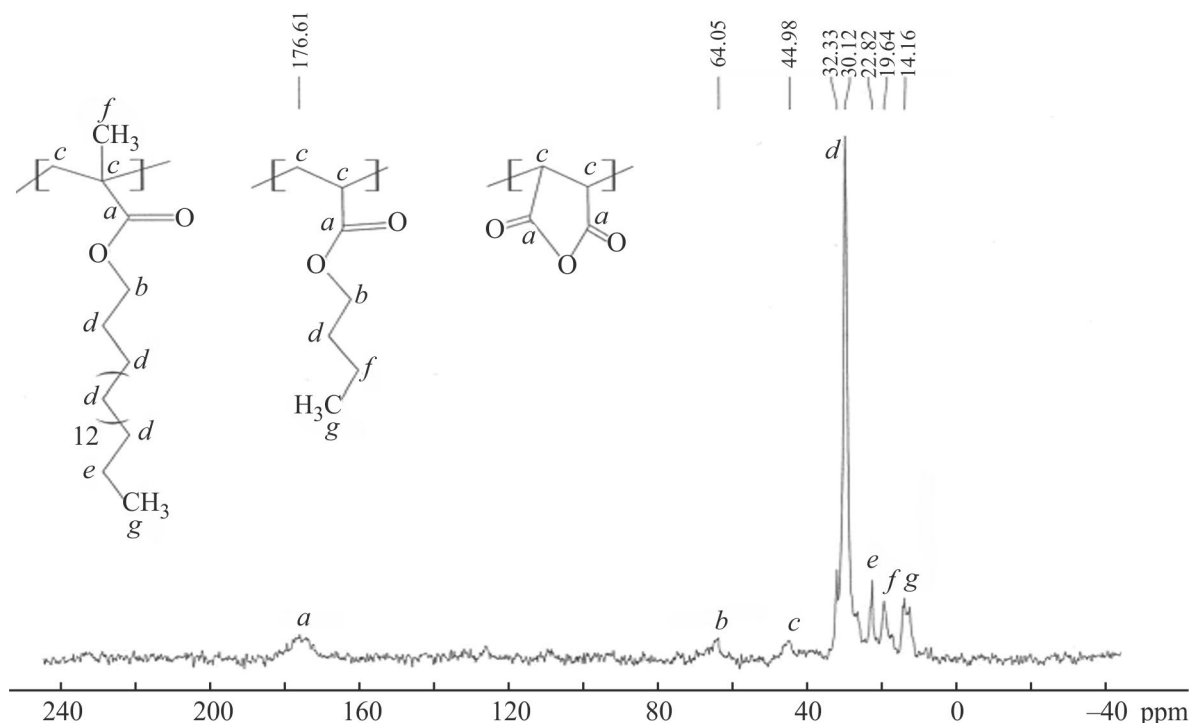


Рис. 1.  $^1\text{H}$  ЯМР-спектр покрытия октадецилметакрилат–бутилакрилат–малеиновый ангидрид.

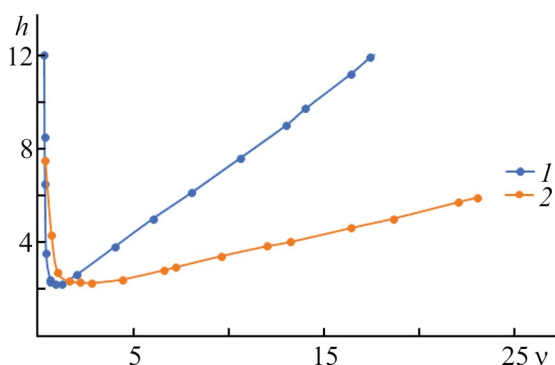


Рис. 2. Кривые Ван-Деемтера для колонок: 1 — Symmetry Si 300 октадецилметакрилат–бутилакрилат–малеиновый ангидрид, 2 — Symmetry Si 100  $\text{C}_{18}$ .

### Выводы

Полимерное модифицирование поверхности силикагелевых сорбентов позволяет:

— нанести на поверхность силикагеля больше функциональных групп (в частности,  $\text{C}_{18}$ ), чем при обычной силанизации, когда число нанесенных  $\text{C}_{18}$ -групп ограничено количеством силанольных групп на поверхности силикагеля, а также стерическими проблемами, связанными с массопереносом модификатора с длинной углеродной цепочкой;

— использовать полимерно-модифицированные сорбенты для разделения соединений основного характера в режиме обращенно-фазовой высокоэффективной хроматографии.

### Финансирование работы

Работа выполнена в рамках государственного финансирования Научно-исследовательского центра химического факультета ЕГУ Комитетом по науке Республики Армения.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

### Информация об авторах

Айрапетян Сергей Суренович, д.х.н.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0655-9668>

Айрапетян Лусине Сергеевна, к.х.н.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-9721-1682>

Хачатрян Айкануш Степановна  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-7657-7602>

Хачатрян Амбарцум Гургенович, д.х.н, проф.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-1823-2866>

### Список литературы

- [1] Dong M. W. New HPLC systems and related products: A brief review // LCGC North Am. 2022. V. 39. P. 172–178. <https://doi.org/10.56530/lcgc.na.jw676717>
- [2] Sydana R. D., Dorsey J. G. Chromatographic silanol activity test procedures: The quest for a universal test // J. Chromatogr. A. 2000. V. 892. N 1–2. P. 57–65. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00722-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00722-6)
- [3] Nawrocki J. The silanol group and its role in liquid chromatography // J. Chromatogr. A. 1997. V. 779. P. 29–71. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00479-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00479-2)
- [4] McCalley D. V., Brereton R. G. High-performance liquid chromatography of basic compounds: Problems, possible solutions and tests of reversed-phase columns // J. Chromatogr. A. 1998. V. 828. P. 407–420. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00590-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00590-1)
- [5] Kobayashi Sh., Tanaka I., Shiota O., Kanda T., Ohtsu Y. Synthesis and characterization of a polymer-coated C<sub>18</sub> stationary phase with high carbon content for liquid chromatography // J. Chromatogr. A. 1998. V. 828. P. 75–81. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00686-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00686-4)
- [6] Bocian S., Dziubakiewicz E., Buszewski B. Influence of the charge distribution on the stationary phases zeta potential // J. Separation Sci. 2015. V. 15. P. 2625–2629. <https://doi.org/10.1002/jssc.201500072>
- [7] Jandera P., Bocian S., Molíková M., Buszewski B. Characterization of the properties of stationary phases for liquid chromatography in aqueous mobile phases using aromatic sulphonic acids as the test compounds // J. Chromatogr. A. 2009. V. 1216. P. 237–248. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.11.055>
- [8] Neue U. D., Phoebe Ch. H., Tran K., Cheng Y.-F., Ziling L. Dependence of reversed-phase retention of ionizable analytes on pH, concentration of organic solvent and silanol activity // J. Chromatogr. A. 2001. V. 925. P. 49–67. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)01009-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)01009-3)
- [9] Hayrapetyan S. S., Khachatryan H. G., Neue U. D. A detailed discussion of the influence of the amount of deposited polymer on the retention properties of polymer-coated silicas // J. Separation Sci. 2006. V. 29. P. 801–809. <https://doi.org/10.1002/jssc.200500408>