



Федеральное медико-биологическое агентство
(ФМБА России)
Федеральное государственное унитарное
предприятие
"Научно-исследовательский институт
гигиены, профпатологии и экологии
человека" Федерального медико-биологического
агентства
(ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России)

188663 Ленинградская область, Всеволожский м. р-н, Кузьмоловское г.п.,
гп Кузьмоловский, ул. Заводская, зд. 6/2, корп. 93

т/факс (812); (812) 449-61-68; 449-61-77; (812) 606-62-80; (812) 606-62-83
E-mail: gpech@fmbamail.ru; niigpech@rihophe.ru

ИНН 4703008032, КПП 470301001, ОГРН 1034700557792, р/с 40502810236000000178 Филиал ОПЕРУ Банка ВТБ
(ПАО) в Санкт-Петербурге г. Санкт-Петербург, к/с 30101810200000000704, БИК 044030704

«РС» 09 2024 г.
№ 2.10 - 24 / 12.94.

«УТВЕРЖДАЮ»
и.о. директора ФГУП «НИИ ГПЭЧ»
кандидат медицинских наук
С.А. Дулов

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного унитарного предприятия «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации на диссертационную работу Деруиша Абденнур «Влияние образования гидратов на параметры удерживания аналитов в обращенно-фазовой ВЭЖХ», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 - Аналитическая химия

Актуальность диссертационного исследования

Важнейшей идентификационной характеристикой аналита при использовании хроматографических методов является время удерживания. Абстрагироваться от конкретных условий анализа позволяет расчет индексов удерживания - безразмерных параметров, характеризующих удерживание аналитов данным типом неподвижной фазы

относительно реперных соединений. Как для подбора условий подтверждающего анализа, так и для формирования гипотезы при идентификации априори неизвестных соединений важно научиться предсказывать параметры удерживания, исходя из структуры и физико-химических свойств известных или предполагаемых аналитов. В газовой хроматографии существуют различные подходы для расчета индексов удерживания. Наиболее классический – метод аддитивных схем И.Г.Зенкевича. Применительно к жидкостной хроматографии предсказание параметров удерживания – значительно более сложная задача, несмотря на то, что эффективность разделения и воспроизводимость времен удерживания в ультра-ВЭЖХ при сверхвысоких давлениях сопоставима с эффективностью разделения на капиллярных колонках в газовой хроматографии. Причина в том, что в ВЭЖХ мы не всегда знаем, в какой именно форме аналиты выходят с хроматографической колонки. Достаточно часто образуются ассоциаты аналитов с молекулами компонентов подвижной фазы, в том числе гидраты. Характер гидратации органических соединений применительно к обращенно-фазовой ВЭЖХ (ОФ ВЭЖХ) изучен недостаточно. Это лишает уверенности в том, что детектируемые формы аналитов соответствуют приписываемым им молекулярным структурам.

Гидратация органических соединений – достаточно сложный и не всегда предсказуемый процесс. Совсем недавно было показано, что гидратация органических соединений в условиях ОФ ВЭЖХ зависит от состава элюента и может носить обратимый характер. Обратимый характер гидратации некоторых органических соединений при использовании элюента ацетонитрил/вода был исследован в работах Д.А.Никитиной с соавторами. Не менее часто в ОФ ВЭЖХ в качестве элюента используется смесь метанол/вода. Важно было понять, возможно ли распространить метод рекуррентной аппроксимации времен удерживания аналитов на другие системы, в частности метанол/вода, или он работает только в системе ацетонитрил/вода. Таким образом, цель диссертационного исследования, сформулированная автором как «рассмотрение закономерностей и особенностей гидратации аналитов в ОФ ВЭЖХ с метанольно-водными элюентами» является актуальной и призвана устранить некоторый провал знаний в теории и практике ОФ ВЭЖХ. Намерение автора произвести проверку пригодности разработанного им косвенного метода обнаружения гидратов органических соединений в условиях ОФ ВЭЖХ также соответствует актуальной для теоретической и прикладной аналитической химии задаче.

Научная новизна исследования

В целом следует отметить, что подавляющее большинство диссертационных работ, представляемых к защите по научной специальности «аналитическая химия», по

существо представляют собой разработку методик для решения прикладных задач в рамках стандартной методологии. Данная работа является исключением в том смысле, что представляет решение нетривиальной задачи новыми средствами. Как отмечено выше, проблемы воспроизводимости и правильности индексов удерживания в ОФ ВЭЖХ до настоящего времени практически не были исследованы. Зависимость индексов удерживания от физико-химических свойств аналитов и состава элюентов в общем виде, насколько нам известно, также ранее исследована не была. Не только решение, но и сама постановка задачи обнаружения гидратных форм аналитов в водно-органических элюентах с помощью нового косвенного метода – рекуррентной аппроксимации их параметров удерживания, характеризуются научной новизной. Автором впервые на системном уровне изучена зависимость удерживания аналитов в условиях ОФ ВЭЖХ от их гидрофобности и от состава элюента. Выведен характер зависимостей для аппроксимации параметров удерживания аналитов от содержания органического растворителя в элюенте. Установлено, что эти соотношения применимы для аппроксимации неисправленных времен удерживания. Изучена гидратация N-замещенных п-толуолсульфонамидов, незамещенных гидразонов ароматических карбонильных соединений и оксимов ароматических карбонильных соединений в условиях ОФ ВЭЖХ. Продемонстрирована эффективность косвенного способа обнаружения гидратов, основанного на выявлении аномалий в зависимостях параметров удерживания аналитов от концентрации органического модификатора в элюенте (C). Получены значения коэффициентов зависимости индексов удерживания (RI) от концентраций модификатора dRI/dC . Установлено, что для неполярных аналитов значения этих коэффициентов чаще всего положительны, а для полярных – отрицательны. Выявлены аномалии рекуррентных зависимостей времен удерживания, характерные для оксимов ароматических карбонильных соединений. Проведен сравнительный анализ эффективности пяти моделей аппроксимации. Для модельной выборки, содержащей 5 соединений различной химической природы: толуол, нитробензол, 3-нитрофенол, N-аллил-п-толуолсульфонамид, N-трет-бутил-п-толуолсульфонамид, было установлено, что рекуррентная аппроксимация времен удерживания (t_R) согласно уравнению $t_R(C + \Delta C) = at_R(C) + b$, $\Delta C = \text{const}$, обеспечивает наибольшую точность аппроксимированных значений t_R по сравнению с другими моделями. Причем, предложенное уравнение может быть применено не только для исправленных, но и для неисправленных t_R . Для выбора предпочтительной модели аппроксимации автором предложен и успешно применен новый критерий: сравнение минимальных и максимальных экспериментальных значений t_R в

наборах данных со значениями, предварительно рассчитанными после их гипотетического исключения из этих наборов (ΔtR).

Значимость для науки и практики результатов, полученных автором диссертации.

В работе даны важные рекомендации для обеспечения правильности измерения времен удерживания в условиях ОФ ВЭЖХ. В частности, продемонстрировано влияние колебаний объемной скорости потока элюента через колонку на воспроизводимость времен удерживания. Значительная часть анализов, исследованных в работе, являются распространенными промышленными токсикантами, определение которых в объектах окружающей среды и промышленных выбросах является актуальной задачей. Толуол, ксилолы, хлорбензол и др. – нетипичные аналиты для ОФ ВЭЖХ. Расширение группы соединений, охватываемых одним аналитическим методом, – важная практическая задача.

Определены времена удерживания и рассчитаны индексы удерживания (RI) для 17 органических соединений с различной гидрофобностью. Значения RI определены для систем метанол-вода, содержание метанола в которых варьировало в диапазоне ($50 \leq C \leq 85$ %, v/v). Установлено, что основным фактором, определяющим знак и абсолютные значения коэффициентов зависимости индексов удерживания от концентраций модификатора dRI/dC , является полярность аналитов. Установлено влияние гомологических инкрементов индексов удерживания на значение коэффициента dRI/dC и выведен характер соответствующей корреляционной зависимости. Исследована также корреляция между коэффициентами dRI/dC одних и тех же аналитов для элюентов вода-ацетонитрил и вода-метанол.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Результаты могут быть использованы в качестве иллюстративного материала в учебных пособиях для студентов в курсе физико-химических методов анализа. Получено много полезной информации, облегчающей хроматографистам выбор условий анализа и побуждающей перестать ограничиваться сугубо эмпирическими подходами в данной области.

Структура и объем диссертации

Первая страница диссертации посвящена выражению благодарности научному руководителю и всем, кто оказывал помощь, - свидетельство приверженности соискателя лучшим традициям научной этики. Диссертация состоит из введения, трех глав основного текста, заключения и списка литературы. Во введении представлены все необходимые элементы, характеризующее диссертацию как научно-квалификационную работу: актуальность темы, цель и задачи исследования, научная новизна, практическая

значимость, основные результаты исследования, список публикаций автора по теме диссертации.

В литературном обзоре (глава 1, содержит 6 разделов, изложена на 31 стр.) приведены основные характеристики ОФ ВЭЖХ как метода разделения смесей органических соединений, обсуждено влияние режима элюирования, состава и свойств подвижной фазы на эффективность разделения аналитов. Представлен метод рекуррентной аппроксимации зависимостей времен удерживания, обсуждены достоинства и ограничения применения индексов удерживания в ОФ ВЭЖХ. Обсуждены имеющиеся сведения о закономерностях гидратации органических соединений.

В экспериментальной части (глава 2) охарактеризованы использованные реактивы и материалы, описан синтез органических соединений, проведенный соискателем для целей исследования, приведены условия анализа методом ОФ ВЭЖХ. Представлены процедуры измерения времен удерживания, а также выявления и устранения возможных ошибок измерений.

В главе 3 (Результаты и их обсуждение) выведены основные соотношения для характеристики зависимости параметров удерживания аналитов от состава элюента. Обоснован и оптимизирован метод рекуррентной аппроксимации параметров удерживания, исследованы процессы гидратации аналитов в обращенно-фазовой ВЭЖХ, которые, как показано, вносят основной вклад в отклонения рекуррентной аппроксимации параметров удерживания от линейности. Представлены результаты рекуррентной аппроксимации параметров удерживания для серии N-замещенных п-толуолсульфонамидов при различных концентрациях метанола в элюенте. Исследована зависимость индексов удерживания соединений разной химической природы от содержания органического растворителя в элюенте. Выведены коэффициенты, описывающие эту зависимость, и исследованы их корреляции с физико-химическими свойствами и молекулярными параметрами аналитов. Проведена оценка гомологических инкрементов факторов гидрофобности и индексов удерживания. Исследована возможность совместной интерпретации параметров удерживания и относительных оптических плотностей растворов аналитов в подвижной фазе. Суммированы установленные особенности незамещенных гидразонов и оксимов ароматических карбонильных соединений в условиях ОФ ВЭЖХ.

Заключение суммирует основные результаты работы, выводы и рекомендации.

Диссертация содержит более 20 таблиц и 20 рисунков, списки которых представлены в конце работы.

Список литературы содержит 178 источников. Диссертация представлена на 147 стр.

Достоверность и обоснованность результатов работы подтверждается прослеживаемостью выполненных измерений и расчетов на всех этапах, анализом и устранением возможных ошибок, выполненных автором на всех этапах проведенного исследования. Заключение закономерно вытекает из результатов работы.

Диссертационная работа в полной мере **отвечает формуле специальности Аналитическая химия**, поскольку выполнена в области молекулярного анализа органических соединений. Работа охватывает следующие области исследований: теория методов аналитической химии (п.1), методы химического анализа (хроматография, п.2), методическое обеспечение химического анализа (п.4), математическое обеспечение химического анализа (п.5), анализ органических веществ и материалов (п.10)

По результатам ознакомления с диссертацией автору может быть адресовано несколько замечаний:

1. Для установленного факта отсутствия зависимости относительной оптической плотности растворов N-замещенных п-толуолсульфонамидов от состава водно-метанольной смеси, по нашему мнению, вывод о бесперспективности исследования гидратов спектральными методами представляется недостаточно обоснованным и слишком глобальным (стр.97).


2. На стр. 107-108 представлено сравнение «результатов хроматографического анализа одних и тех же смесей ароматических альдегидов с гидразин–гидратом, полученные на хроматографе Shimadzu LC-20 Prominence и на хроматографе UltiMate 3000 с масс-спектрометрическим детектированием» (цитата). При этом, насколько можно понять из контекста, в условиях хроматографического анализа в качестве элюента использована смесь метанол/вода, а в условиях хроматомасс-спектрометрического – смесь ацетонитрил/вода с добавкой муравьиной кислоты. Различные химические формы, в которых детектируются аналиты, обусловлены составом элюентов, что очевидно для автора и даже указано в тексте, но у читателя может сложиться ложное впечатление, что они обусловлены еще и характером детектирования. Этого можно было бы избежать, если бы условия хроматомасс-спектрометрического анализа были представлены в Экспериментальной части.

3. Научная новизна исследования сформулирована автором в 2-х предложениях, а практическая значимость – в одном (стр. 8). Оба элемента (научная новизна и практическая значимость) в работе, безусловно, присутствуют и отражены в тексте настоящего отзыва, но самому автору следовало изложить их более развернуто.

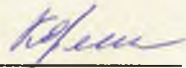
4. В работе отсутствует список сокращений и обозначений.

Высказанные замечания не являются значительными, не снижают общего положительного впечатления от работы.

Диссертация является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное значение для развития метода жидкостной хроматографии. Цель работы достигнута, поставленные задачи успешно решены. Диссертационная работа соответствует требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», а также требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г (в ред. Постановлений Правительства Российской Федерации от 11.09.2021 № 1539 и прочих актуальных редакциях), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор работы – Деруиш Абденнур, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 – Аналитическая химия».

Отзыв подготовлен заведующей лабораторией аналитической токсикологии ФГУП «НИИ ГПЭЧ», доктором химических наук  Савельевой Еленой Игоревной.

Отзыв заслушан и одобрен на заседании Ученого совета ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, протокол № 4 от 10 сентября 2024 г.

Секретарь Ученого совета, кандидат химических наук  Корягина Н.Л.

Адрес 188663, Ленинградская область, Всеволожский м. р-н, Кузьмоловское г.п.,
гп Кузьмоловский, ул. Заводская, зд. 6/2, корп. 93, тел. (812) 449-61-68; E-mail:
niigpech@rihophe.ru