

На правах рукописи



Овчинников Денис Владимирович

**МЕХАНИЗМЫ УДЕРЖИВАНИЯ ВЕЩЕСТВ НА СОРБЕНТАХ С ПОЛЯРНЫМИ
И ИОНОГЕННЫМИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ ГРУППАМИ В
СВЕРХКРИТИЧЕСКОЙ ФЛЮИДНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

02.00.04 – Физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук

Архангельск-2019

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова» (САФУ имени М.В. Ломоносова)

Научный руководитель:

доктор химических наук, профессор
Боголицын Константин Григорьевич

Официальные оппоненты:

Новосёлов Николай Петрович
доктор химических наук, профессор
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный университет
промышленных технологий и дизайна»,
кафедра теоретической и прикладной химии,
заведующий кафедрой

Шпигун Олег Алексеевич
доктор химических наук, профессор
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Московский государственный университет имени
М.В. Ломоносова», химический факультет,
заведующий лабораторией хроматографии

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Самарский национальный исследовательский
университет имени академика С.П. Королева»

Защита состоится «24» декабря 2019 г. в 13 ч. 00 мин. на заседании совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 002.106.01 при ИХР РАН по адресу: 153045, г. Иваново, ул. Академическая, д. 1, тел.: (4932)336272, e-mail: dissovet@isc-ras.ru, факс (4932)336237.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на официальном сайте ИХР РАН <http://www.isc-ras.ru/?q=ru/deyatelnost/dissertacionnyy-sovet/>.

Автореферат разослан «__» _____ 201__ г.

Учёный секретарь
диссертационного совета
Д 002.106.01



Антина Е.В

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы и степень её разработанности. Сверхкритическая флюидная хроматография (СФХ) – интенсивно развивающийся метод, обладающий рядом преимуществ по сравнению с классическими хроматографическими методами. Использование в качестве основного компонента подвижной фазы сверхкритического диоксида углерода (СК- CO_2), характеризующегося высокими коэффициентами диффузии и низкой вязкостью, позволяет проводить многие разделительные процессы с большей скоростью по сравнению с жидкостной хроматографией без потери эффективности разделений. Кроме того, СФХ позволяет использовать один элюент и с полярными, и с неполярными сорбентами, позволяя, реализовывать как обращённо-фазовый, так и нормально-фазовый режимы разделения, при этом избегая проблем, присущих НФ ВЭЖХ [1, 2].

Однако эти достоинства в то же время являются причиной сложности работы в режиме СФХ, поскольку количество параметров, влияющих на разделение, существенно больше по сравнению с жидкостной или газовой хроматографией: температура, давление, плотность флюида, скорость потока, тип сорбента, состав подвижной фазы и т.д. Отдельно стоит отметить возможность использования так называемых динамических модификаторов – соединений, которые вводятся в элюент в малых количествах (до 1%), но, вместе с тем, оказывают кардинальный эффект на разделение.

Несмотря на то, что к настоящему моменту свойства СК- CO_2 и его смесей с различными сорастворителями достаточно хорошо исследованы, в том числе растворяющая и элюирующая способность [3, 4], а также взаимодействия с неподвижной фазой, остается открытым ряд вопросов, связанных с механизмами взаимодействий в системе «неподвижная фаза – элюент – аналит» при использовании динамических модификаторов.

В связи с этим, актуальной является оценка влияния различных типов межмолекулярных взаимодействий на разделение в СФХ и создание на основе полученных данных рекомендаций для разработки методик анализа сложных смесей веществ.

Целью работы является оценка влияния различных факторов на механизмы удерживания аналитов на неподвижных фазах с полярными и ионогенными функциональными группами в условиях сверхкритической флюидной хроматографии с позиций метода линейной зависимости свободной энергии.

В соответствии с поставленной целью, основными **задачами** работы являются:

1. Обоснование применимости метода линейной зависимости свободной энергии (ЛЗСС) для характеристики межмолекулярных взаимодействий в СФХ.
2. Характеристика ряда полярных неподвижных фаз с различными функциональными группировками с позиций метода линейной зависимости свободной энергии.
3. Оценка влияния давления и температуры на механизмы взаимодействий в системе «неподвижная фаза – элюент – аналит».
4. Оценка влияния состава подвижной фазы, а именно количества сорастворителя, типа и концентрации наиболее часто используемых динамических модификаторов (трифторуксусная кислота, диэтиламин, ацетат аммония, вода) на механизмы взаимодействий в системе «неподвижная фаза – элюент – аналит».
5. Применение разработанных подходов для оптимизации условий разделения аналитов – природных соединений.

Научная новизна.

1. Теоретически обоснована и экспериментально подтверждена применимость метода ЛЗСС для оценки влияния различных параметров (давление, температура, состав элюента) на характер межмолекулярных взаимодействий в СФХ, предложены рекомендации по разработке подходов к разделению сложных смесей на полярных неподвижных фазах.

2. Получены новые данные о влиянии температуры и давления на удерживание анализов, селективность хроматографического разделения и ЛЗСС-коэффициенты для ряда полярных неподвижных фаз. Проведённый анализ выявил относительно слабую зависимость удерживания и селективности в СФХ на полярных фазах от температуры и давления.

3. Изучено влияние распространенных динамических модификаторов (трифторуксусная кислота, диэтиламин, ацетат аммония, вода) на межмолекулярные взаимодействия в системе «неподвижная фаза – элюент – аналит» для ряда полярных неподвижных фаз (немодифицированный силикагель, цианопропильная, этилпиридиновая, сульфобетаиновая цвиттер-ионная фазы). Установлено, что кислотные, основные и солевые добавки в первую очередь влияют на интенсивность ионных взаимодействий, при этом основная и солевая добавки оказывают схожее воздействие.

4. Впервые оценено влияние воды на характеристики межмолекулярных взаимодействий в СФХ, включая ионные взаимодействия. Установлено, что введение в систему воды оказывает комплексное воздействие: во всех случаях наблюдается рост коэффициентов d^+ , a и b , соответственно, возрастает удерживание ионизируемых анализов и соединений, склонных к образованию водородных связей. Для этилпиридиновой и цианопропильной фаз также наблюдается рост параметра s , связанного с участием диполь-дипольных взаимодействий.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Установленные с помощью метода ЛЗСС закономерности влияния различных параметров (давление, температура, состав подвижной фазы) на характер протекающих в системе «неподвижная фаза – элюент – аналит» взаимодействий необходимы для более глубокого понимания механизмов удерживания соединений на полярных неподвижных фазах в условиях сверхкритической флюидной хроматографии. Полученные данные могут быть полезны при разработке алгоритмов, обеспечивающих обоснованный выбор условий хроматографического анализа многокомпонентных смесей.

Методология и методы диссертационного исследования. Основу методологии диссертационного исследования составили эксперимент, анализ, сравнение и обобщение данных. Для решения поставленных в рамках данного научного исследования задач использовался метод сверхкритической флюидной хроматографии. Мультилинейный регрессионный анализ экспериментальных данных осуществлялся с использованием программы Microsoft® Excel (Microsoft® Corporation, 2010) в соответствии с методом линейной зависимости свободной энергии. Для анализа и теоретического обоснования полученных результатов были использованы научные труды отечественных и зарубежных исследователей в области сверхкритической флюидной хроматографии и метода линейной зависимости свободной энергии.

Положения, выносимые на защиту:

1. Данные об интенсивности межмолекулярных взаимодействий для ряда полярных неподвижных фаз с различными функциональными группировками.

2. Данные о влиянии температуры и давления на удерживание аналитов, селективность разделения и ЛЗСС-коэффициенты хроматографических систем.

3. Закономерности влияния типа и концентрации динамических модификаторов на межмолекулярные взаимодействия в системе «неподвижная фаза – элюент – аналит».

4. Разработанная методика экспрессного определения ароматических кислот на неподвижной фазе с привитыми этилпиридиновыми функциональными группами с использованием кислотного динамического модификатора.

Достоверность полученных результатов и выводов. Достоверность полученных результатов обусловлена воспроизводимостью экспериментальных данных, полученных с использованием современного высокоточного оборудования и химических реактивов с высокой степенью чистоты, согласованностью полученных результатов и выводов с уже имеющимися литературными данными, а также публикациями в рецензируемых научных журналах.

Связь темы диссертации с плановыми исследованиями. Диссертационная работа выполнена в рамках проектной части государственного задания Министерства образования и науки РФ №4.3273.2017/ПЧ «Арктические бурые водоросли как новый источник получения антиоксидантов», №4.2518.2017/ПЧ «Новые методы аналитического контроля приоритетных экотоксикантов арктического региона».

Апробация работы. Основные результаты работы представлены на VIII Научно-практической конференции «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации» (г. Зеленоградск, 2015), III Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» (г. Краснодар, 2017), Шестом Всероссийском симпозиуме и Школе-конференции молодых ученых «Кинетика и динамика обменных процессов» (г. Сочи, 2017), IX Научно-практической конференции «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации» (г. Сочи, 2017), Международном молодежном научном форуме «ЛОМОНОСОВ-2018» (г. Москва, 2018), X Научно-практической конференции «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации» (г. Ростов-на-Дону, 2019).

Личный вклад автора состоял в самостоятельном поиске и анализе литературных данных по теме исследования, выполнении экспериментальных работ по изучению влияния давления, температуры, типа и концентрации динамических модификаторов, разработке подходов к анализу ароматических кислот, в активном участии в обсуждении полученных результатов, в подготовке статей и докладов по материалам работы, в выступлениях на конференциях.

Публикации. По материалам научно-квалификационной работы опубликовано 2 статьи в журналах, входящих в базы данных Scopus и Web of Science, и 6 тезисов докладов, опубликованных в сборниках трудов конференций различного уровня.

Структура диссертации. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, обсуждения полученных результатов, выводов и списка использованной литературы. Материал изложен на 146 страницах и содержит 39 рисунков, 24 таблицы и библиографию из 195 наименований.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю д.х.н., проф. К.Г. Боголицыну за помощь в постановке задач и обсуждении результатов; к.х.н. Косякову Д.С., к.х.н. Ульяновскому Н.В., к.х.н. Покровскому О.И. за консультацию по тематике работы, всем сотрудникам ЦКП НО «Арктика» и кафедры теоретической и прикладной химии за отзывчивость и помощь в работе.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием «Арктика», САФУ имени М.В. Ломоносова

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** обоснована актуальность выбранной темы исследований, сформулирована основная цель работы и задачи, которые необходимо решить для ее достижения, отражены научная новизна и практическая значимость работы.

В **главе 1** представлен обзор литературных данных по основным принципам и особенностям сверхкритической флюидной хроматографии. Показана роль свойств подвижной и неподвижной фаз на характеристики разделения. Проведен анализ подходов к исследованию механизмов удерживания в СФХ. Изложены теоретические основы и возможная область применения метода линейной зависимости свободной энергии (ЛЗСС), в соответствии с которым в удерживание аналита вносят вклад различные типы межмолекулярных взаимодействий, в соответствии с уравнениями [5]:

$$\log k = c + eE + sS + aA + bB + vV \quad (1)$$

$$\log k = c + eE + sS + aA + bB + vV + d^-D^- + d^+D^+ \quad (2)$$

Здесь k – коэффициент удерживания аналита; c – константа, связанная с геометрическими характеристиками хроматографической колонки и наполняющего ее сорбента; E – избыточная молярная рефракция, рассчитываемая из показателя преломления и моделирующая вклад в поляризуемость пи-электронов и неподеленных электронных пар атомов; S – общая полярность/поляризуемость молекулы аналита; A и B – кислотность и основность аналита, соответственно, обусловленные способностью выступать донором/акцептором водородных связей; V – характеристический молекулярный объем Макгована ($\text{см}^3 \cdot \text{мол}^{-1} / 100$); D^- и D^+ характеризуют, соответственно, отрицательный и положительный заряд аналита.

Заглавные буквы в данных уравнениях обозначают характеристики аналитов, известные из литературных данных, а строчные – характеристики сорбента, связанные с его склонностью к тому или иному типу взаимодействий.

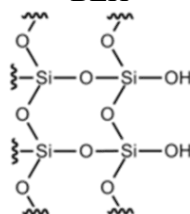
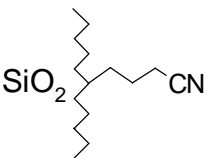
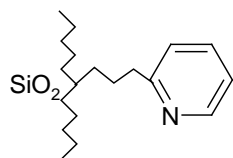
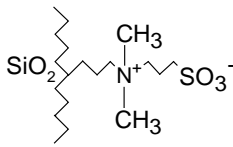
На основании рассмотренных литературных данных делается вывод о правомерности его применения для оценки влияния различных факторов (давление, температура, состав подвижной фазы) на межмолекулярные взаимодействия в системе.

В **главе 2** представлены характеристики используемого оборудования, неподвижных фаз и реактивов, включая дескрипторы аналитов для ЛЗСС-анализа. Описаны методики проведения ЛЗСС-анализа, термодинамических экспериментов и обработки данных.

В **главе 3** описана характеристика исследуемых хроматографических систем с использованием метода ЛЗСС в отсутствие динамических модификаторов при температуре 25°C и давлении 150 бар. При этом использовались набор из 72 нейтральных аналитов, и набор из 89 аналитов, включающий ионизируемые соединения (кислоты и основания). Соответственно, использовались уравнение (1), учитывающее 5 основных типов взаимодействий, и уравнение (2), принимающее во внимание ионные взаимодействия. В ходе работы исследовались широко используемые в СФХ полярные неподвижные фазы: немодифицированный силикагель, силикагель с привитыми цианопропильными группами, силикагель с привитыми этилпиридиновыми группами и сульфобетаиновый цвиттер-ионный сорбент.

В соответствии с полученными данными (таблица 1), исследованные неподвижные фазы имеют ряд схожих характеристик – склонность к взаимодействиям с сорбатами по механизмам водородных связей, (a , b , $d^+ > 0$), ориентационных и индукционных ван-дер-ваальсовых взаимодействий ($s > 0$), а также специфических взаимодействий с участием π -электронов и неподелённых электронных пар ($e > 0$), и при этом низкая склонность к взаимодействию по дисперсионному механизму ($v \leq 0$). Основные различия заключаются в относительной величине параметров систем.

Таблица 1. Результаты ЛЗСС-анализа исследуемых сорбентов.

Сорбент	d ⁺	d ⁻	v	b	a	s	e	c	u	R ² _{корр}	Уравнение	
<div>BEH</div> <div></div>			-0,36	0,76	1,10	0,29	0,34	-1,55	1,46	0,953	(1)	
			0,08	0,08	0,05	0,08	0,04	0,08				
			-0,51	0,96	1,01	0,05	0,46	-1,32	1,56	0,929	(1)	
			0,09	0,08	0,05	0,07	0,05	0,08				
		0,67	0,05	-0,43	0,91	1,05	0,08	0,43	-1,41	1,66	0,942	(2)
		0,10	0,06	0,08	0,07	0,05	0,07	0,04	0,08			
<div>HSS Cyano</div> <div></div>			-0,03	0,13	0,72	0,27	0,33	-1,41	0,85	0,943	(1)	
			0,06	0,06	0,04	0,06	0,03	0,06				
			-0,11	0,27	0,69	0,12	0,40	-1,29	0,86	0,921	(1)	
			0,06	0,05	0,03	0,05	0,03	0,06				
		0,35	-0,11	-0,03	0,22	0,71	0,15	0,38	-1,38	0,92	0,923	(2)
		0,08	0,04	0,06	0,06	0,04	0,05	0,03	0,06			
<div>BEH 2-EP</div> <div></div>			-0,05	0,20	1,40	0,08	0,44	-1,33	1,48	0,958	(1)	
			0,08	0,07	0,05	0,07	0,04	0,08				
			-0,05	0,30	1,48	0,11	0,46	-1,43	1,58	0,954	(1)	
			0,08	0,07	0,04	0,07	0,04	0,07				
		0,03	0,27	-0,07	0,22	1,36	0,02	0,46	-1,28	1,48	0,965	(2)
		0,09	0,04	0,08	0,07	0,04	0,06	0,04	0,08			
<div>Nucleodur HILIC</div> <div></div>			-0,42	0,69	1,82	0,21	0,51	-1,31	2,07	0,967	(1)	
			0,11	0,12	0,06	0,10	0,06	0,11				
			-0,52	0,88	1,80	0,06	0,62	-1,21	2,18	0,957	(1)	
			0,10	0,11	0,06	0,09	0,06	0,09				
		0,09	0,32	-0,54	0,94	1,74	0,00	0,64	-1,18	2,17	0,959	(2)
		0,12	0,08	0,11	0,11	0,07	0,08	0,06	0,10			

Цвиттер-ионная фаза Nucleodur HILIC демонстрирует наибольшую склонность к взаимодействиям за счет π -электронов и неподелённых электронных пар ($e - \max$), вероятно, за счёт наличия $-SO_3$ функциональной группы. Наименьшей склонностью к подобным взаимодействиям отличается цианофаза, однако, для неё наблюдается несколько бо́льшая величина коэффициента s , связанного с электростатическими взаимодействиями, вероятно, ввиду большого дипольного момента цианогруппы.

Цвиттер-ионный сорбент в большей степени, нежели остальные сорбенты, способен выступать в роли акцептора протонов ($a - \max$), наименьшая склонность к такого рода взаимодействиям наблюдается для цианофазы ($a - \min$). Немодифицированный силикагель БЕН характеризуется меньшим коэффициентом a по сравнению с фазами Nucleodur HILIC и БЕН 2-EP. Стоит отметить, что БЕН – это единственный сорбент, в равной степени способный выступать в качестве как донора,

так и акцептора протонов ($a \approx b$), вероятно, ввиду отсутствия функциональных групп помимо силанольных ОН-групп.

Представленные сорбенты обладают различной склонностью к взаимодействиям с протонируемыми (параметр d^+) и депротонируемыми (параметр d^-) соединениями. Для цианофазы и силикагеля нехарактерны взаимодействия с депротонируемыми аналитами ($d^- \approx 0$) и при этом весьма заметны противоположные ($d^+ = 0,67$ и $0,35$ соответственно). В отношении параметра d^- это предсказуемо, так как эти два сорбента не обладают функциональными группами, способными обеспечить интенсивное взаимодействие с кислотными депротонируемыми компонентами по иным механизмам, кроме водородной связи. Высокое значение d^+ для фазы ВЕН может быть объяснено наличием кислых силанольных протонов, что должно обеспечивать выгодный контакт с протонируемыми аналитами (например, аминами). Аналогичное поведение нитрильной фазы менее очевидно.

Этилпиридиновая и цвиттер-ионная фазы демонстрируют противоположное поведение: пренебрежимо малый вклад взаимодействий с протонируемыми аналитами ($d^+ \approx 0$) и достаточно высокий с депротонируемыми ($d^- = 0,27$ и $0,32$, соответственно). Наиболее вероятное объяснение этому – наличие в структуре сорбентов нуклеофильных функциональных групп, способных вступать в сильное кислотно-основное взаимодействие с депротонируемыми аналитами, такими как фенолы или карбоновые кислоты.

Таким образом, выбранные сорбенты характеризуются достаточно разнообразным поведением в СФХ, следовательно, можно полагать, что оценка влияния параметров состояния флюида на удерживания с их использованием будет достаточно показательной.

В главе 4 исследовалось влияние различных факторов на удерживание аналитов в условиях СФХ, проводилась оценка применимости метода ЛЗСС для характеристики эффекта от варьирования данных параметров.

Влияние давления

Установлено, что для всех анализируемых компонентов на каждой из неподвижных фаз с ростом давления в равной степени уменьшается время удерживания всех соединений, что объясняется увеличением плотности флюида и, соответственно, его элюирующей способности. Наибольшее уменьшение удерживания наблюдается для цианопропильной неподвижной фазы, а наименьшее – для этилпиридиновой фазы.

Варьирование давления приводит и к изменению формы пиков, в частности, для всех исследуемых соединений на каждой неподвижной фазе увеличение давления приводит к уменьшению ширины пиков. В то же время, тейлинг, напротив, с увеличением давления возрастает почти для всех компонентов.

Рассчитанные для хроматографических систем ЛЗСС-коэффициенты слабо зависят от давления, что соответствует незначительным изменениям удерживания (Рисунок 1).

В первую очередь стоит отметить изменение коэффициентов, описывающих водородно-связные взаимодействия: для всех неподвижных фаз, кроме цианопропильной, наблюдается незначительное увеличение коэффициента a , для цвиттер-ионной фазы также наблюдается возрастание коэффициента b . В случае цианофазы, напротив, наблюдается уменьшение коэффициента b . Коэффициенты ν , e и s практически не зависят от давления на всех 4-х фазах.

Коэффициенты d^+ и d^- для цвиттер-ионной и этилпиридиновой фаз практически не подвержены влиянию давления. Для фазы ВЕН с ростом давления наблюдается увеличение способности к взаимодействию с аналитами основной природы (d^+) и небольшое падение d^- . Для нитрильной фазы коэффициент d^+ незначительно возрастает с давлением, а коэффициент d^- остаётся неизменным.

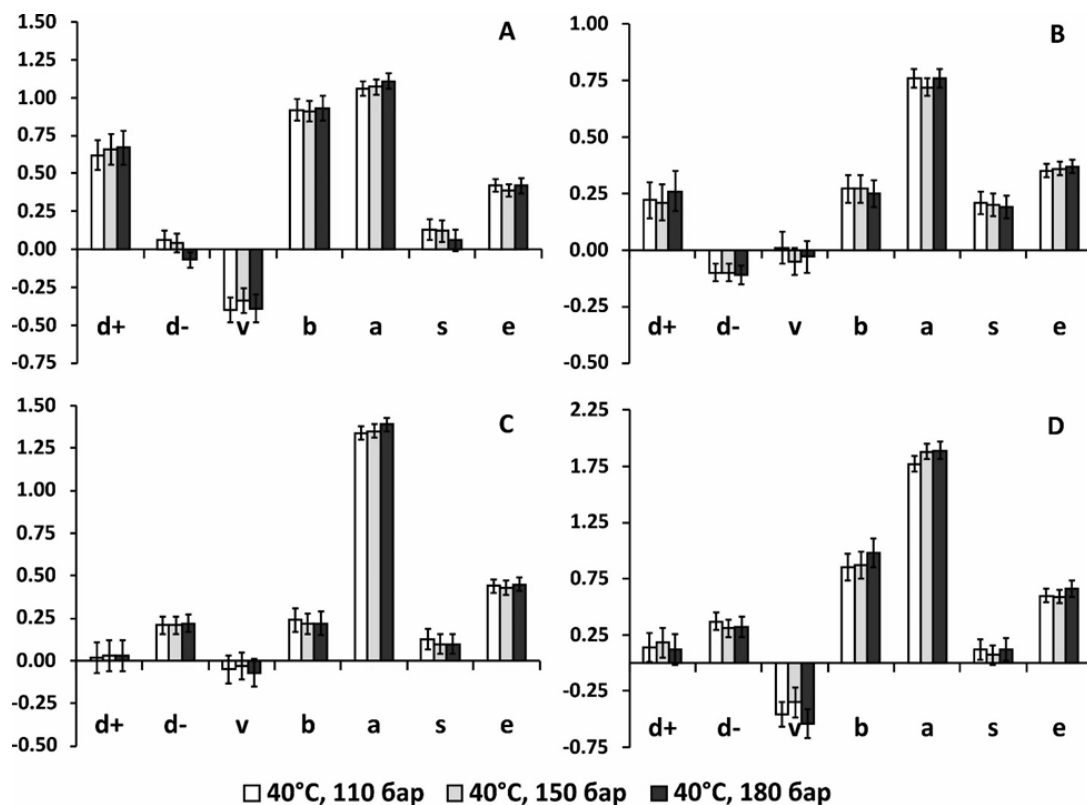


Рисунок 1. Влияние давления на ЛЗСС-параметры хроматографических систем; А – ВЕН, В – HSS Cyano, С – ВЕН 2-EP, D – Nucleodur HILIC.

Влияние температуры

Изобарический рост температуры приводит к падению плотности флюида и чаще всего, хотя и не всегда, к росту удерживания. Максимальное влияние на удерживание температура оказывает на нитрильной фазе, минимальное – на цвиттер-ионной и этилпиридиновой. Эти наблюдения хорошо коррелируют с аналогичными данными о влиянии давления, где для нитрильной фазы также наблюдается максимальное действие параметра состояния флюида на удерживания. Очевидно, удерживание на нитрильной фазе наиболее чувствительно к плотности флюида.

Температура неодинаково сказывается на разных подгруппах тестовых соединений. Нейтральные соединения, в том числе ПАУ, малочувствительны к её действию на всех колонках кроме нитрильной. Наибольшее влияние температура оказывает на кислоты, при этом наибольший эффект наблюдается для нитрильной фазы. В случае же протонируемых оснований повышение температуры приводит не к росту, а к падению коэффициентов удерживания на всех 4-х фазах. Стоит отметить особенность цвиттер-ионной фазы: удерживание большинства тестовых соединений на них падает с нагревом. Скорее всего, это означает, что для данной фазы температура оказывает более сильное ослабляющее влияние на взаимодействие сорбата с сорбентом, чем с подвижной фазой.

Воздействие температуры на форму пиков носит комплексный характер, и зависит как от неподвижной фазы, так и от аналита. Например, для оснований ширина

увеличивается на силикагелевой и цианопропильной фазе, а на этилпиридиновой и цвиттер-ионной – уменьшается. Тейлинг с ростом температуры уменьшается для большинства соединений, в особенности – для протонируемых оснований, исключением являются некоторые кислоты.

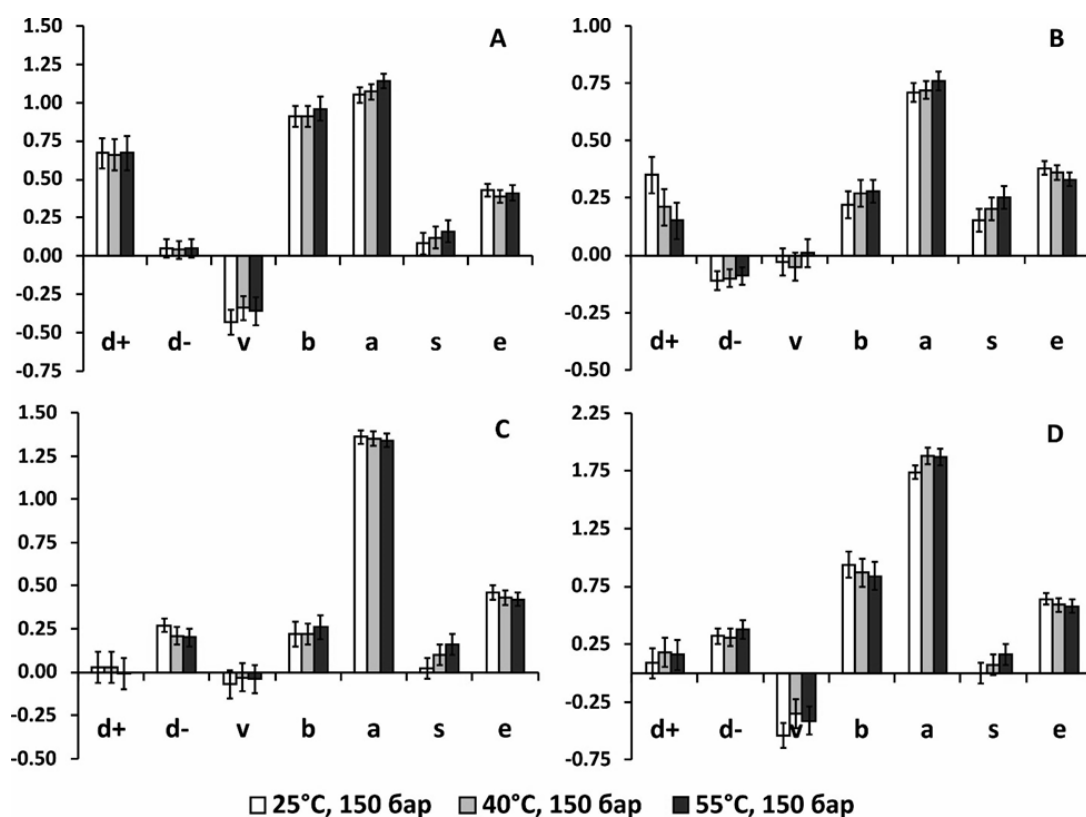


Рисунок 2. Влияние температуры на ЛЗСС-параметры хроматографических систем; А – ВЕН, В – HSS Cyano, С – ВЕН 2-EP, D – Nucleodur HILIC.

Для всех неподвижных наблюдается статистически значимый рост коэффициента s , описывающего интенсивность ориентационных и индукционных ван-дер-ваальсовых взаимодействий (рисунок 2). Изменения остальных параметров выражены гораздо слабее, однако, стоит отметить существенное уменьшение коэффициента d^+ с нагревом на нитрильной фазе. Тем не менее, в силу общей малой чувствительности параметров ЛЗСС к изменению температуры не везде удаётся зафиксировать чёткие однозначные корреляции между ними и температурными зависимостями удерживания.

Изучение температурных зависимостей параметров удерживания также может быть очень информативным при исследовании механизмов хроматографического разделения. В соответствии с уравнением (3), коэффициент удерживания k связан с энтальпией и энтропией сорбции [6]:

$$\ln k = \ln \Phi - \frac{1}{T} \left(\frac{\Delta H}{R} \right) + \frac{\Delta S}{R}, \quad (3)$$

где Φ – так называемое фазовое соотношение, отношение числа молей неподвижной фазы к числу молей подвижной фазы;

ΔH – мольное изменение энтальпии при сорбции сорбата из подвижной фазы на неподвижную;

ΔS – мольное изменение энтропии при сорбции сорбата из подвижной фазы на неподвижную.

Если считать, что ΔH , ΔS и Φ не зависят от температуры, то функция $\ln k = f(1/T)$ должна быть линейной, что позволяет извлекать значения энтальпии сорбции из значений тангенса угла наклона прямых вида $\ln k = a(1/T) + b$.

Для СФХ анализ таких зависимостей осложняется высокой сжимаемостью флюида, перепадом давления и, как следствие, перепадом плотности флюида вдоль хроматографической колонки и некоторыми другими факторами. Поэтому упрощённое уравнение (3) используется с учетом того, что тангенс угла наклона зависимости $\ln k = f(1/T)$ будет пропорционален не энтальпии сорбции, а некоему интегральному параметру, в который энтальпия входит в качестве одного из слагаемых. Достаточным условием применимости такого подхода обычно считается линейный характер экспериментальной зависимости $\ln k = f(1/T)$.

Для ряда структурных изомеров с использованием этилпиридиновой и цвиттер-ионной неподвижной фаз в изохорных условиях были получены значения коэффициентов, пропорциональных энтальпии и энтропии сорбции (таблица 2). О достаточной достоверности результатов можно судить по величинам коэффициентов корреляции (R^2) полученных зависимостей, превышающих 0,99.

Установлено, что для структурных изомеров значения энтальпий и энтропий сорбции ожидаемо близки, исключение составляют орто-изомеры, характеризующиеся, во-первых, более низкими временами удерживания, и, во-вторых, более высокими значениями энтальпии и энтропии. Тем не менее, не выявлена однозначная взаимосвязь между временами удерживания изомеров и величинами, характеризующими энергию сорбции, что может свидетельствовать о комплексном механизме удерживания.

Таблица 2. Коэффициенты, пропорциональные энтальпии ($\sim \Delta H_{\text{сорб}}$) и энтропии ($\sim \Delta S_{\text{сорб}}$) сорбции ряда структурных изомеров на этилпиридиновой (ВЕН 2-EP) и цвиттер-ионной фазах (Nucleodur HILIC) по данным анализа температурных зависимостей удерживания.

Соединение	ВЕН 2-EP				Nucleodur HILIC			
	Порядок выхода	$\sim \Delta H_{\text{сорб}}$	$\sim \Delta S_{\text{сорб}}$	R^2	Порядок выхода	$\sim \Delta H_{\text{сорб}}$	$\sim \Delta S_{\text{сорб}}$	R^2
Пирокатехин	1	975,4	-2,12	0,9938	1	711,3	0,00	0,9939
Резорцин	2	1114,8	-1,84	0,9992	2	592,6	1,41	0,9972
о-Крезол	1	1473,4	-4,73	0,9987	1	1032,9	-2,75	0,9900
м-Крезол	3	1277,0	-4,10	0,9981	2	861,3	-2,09	0,9916
п-Крезол	2	1322,9	-4,24	0,9989	3	818,3	-1,95	0,9972
2,6-ДМФ*	1	1952,0	-6,62	0,9969	1	1543,6	-4,94	0,9976
2,5-ДМФ	2	1556,7	-5,06	0,9969	2	1226,9	-3,46	0,9954
2,4-ДМФ	3	1528,5	-4,95	0,9967	3	1043,2	-2,88	0,9970
3,5-ДМФ	4	1343,9	-4,35	0,9983	5	908,7	-2,33	0,9971
3,4-ДМФ	5	1356,4	-4,31	0,9958	6	847,1	-2,03	0,9917
2,3-ДМФ	6	1575,5	-4,98	0,9995	4	1197,9	-3,22	0,9983
о-Хлорфенол	1	1832,2	-5,86	0,9995	1	1496,7	-4,08	0,9989
м-Хлорфенол	3	1164,7	-3,40	0,9980	3	682,5	-1,36	0,9974
п-Хлорфенол	2	1074,2	-3,15	0,9963	2	654,4	-1,27	0,9965
о-НБС**	1	1518,6	-4,74	0,9994	1	1095,8	-2,82	0,9985
м-НБС	2	1220,8	-3,58	0,9974	3	796,4	-1,66	0,9915
п-НБС	3	1120,6	-3,25	0,9939	2	746,0	-1,52	0,9934
о-Толуидин	1	1791,5	-6,66	0,9990	1	1711,6	-5,72	0,9929
п-Толуидин	2	1880,9	-6,82	0,9948	2	1944,5	-6,17	0,9999

*ДМФ – диметилфенол, **НБС – нитробензиловый спирт

Влияние количества соразтворителя

Установлено, что изменение содержания соразтворителя приводит к существенным изменениям ЛЗСС-коэффициентов (Рисунок 3).

Наибольшие изменения наблюдаются для коэффициентов a и b , отражающих интенсивность взаимодействий с участием водородных связей – с увеличением содержания метанола эти коэффициенты существенно уменьшаются для всех неподвижных фаз. Это закономерно, поскольку метанол является донором протонов, соответственно, любые соединения, склонные к взаимодействиям с участием водородных связей, будут обладать повышенным сродством к подвижной фазе и элюироваться быстрее.

Для всех сорбентов наблюдается уменьшение коэффициентов e и s , отражающих диполь-дипольные взаимодействия и взаимодействия с участием n -/ π -электронов, что, вероятно, связано с увеличением полярности элюента. Рост полярности вызван, во-первых, увеличением доли полярного соразтворителя и, во-вторых, увеличением плотности подвижной фазы.

Кроме того, наблюдается уменьшение коэффициента d^+ , связанного с взаимодействиями с протонируемыми соединениями, на всех фазах, за исключением этилпиридиновой. Коэффициент d^- , тем не менее, изменяется несущественно, исключением являются этилпиридиновая фаза (d^- уменьшается) и немодифицированный силикагель (d^- увеличивается и становится >0).

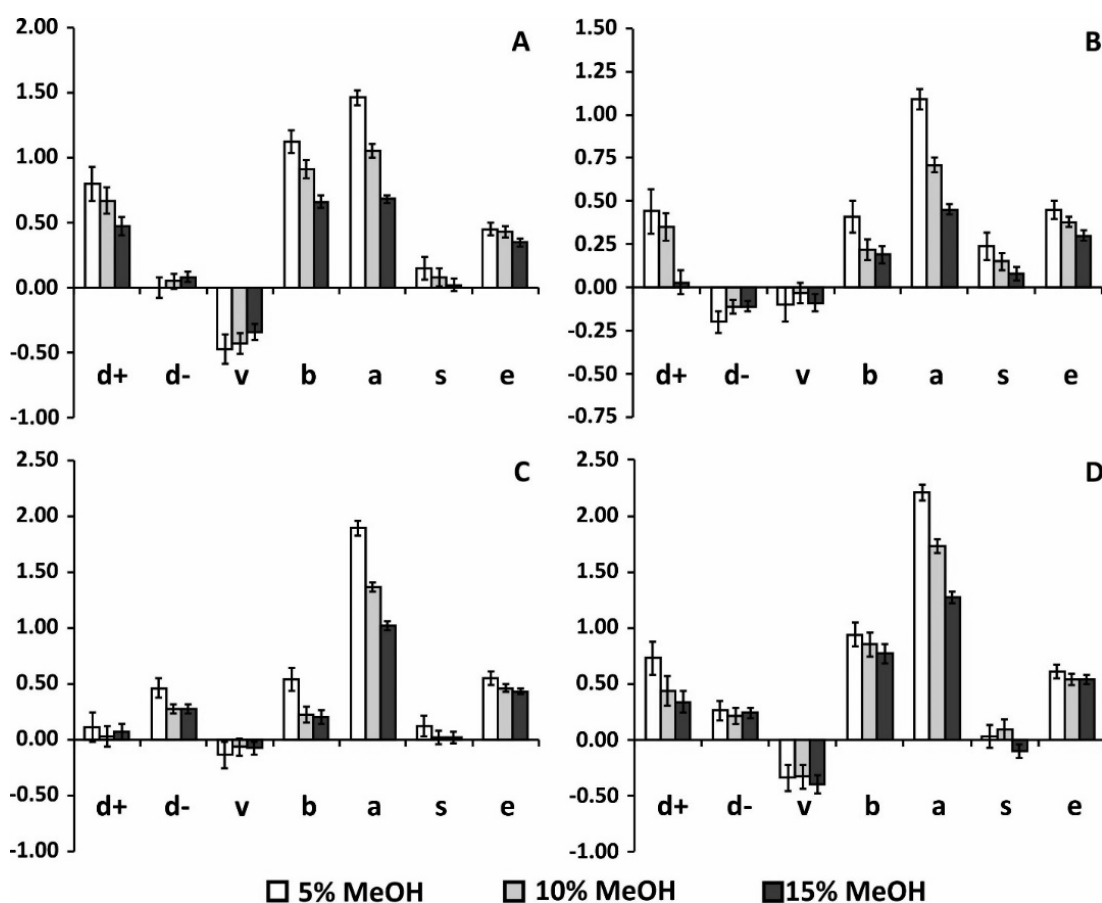


Рисунок 3. Влияние количества метанола в элюенте на ЛЗСС-параметры хроматографических систем; А – BEH, В – HSS Cyano, С – BEH 2-EP, D – Nucleodur HILIC.

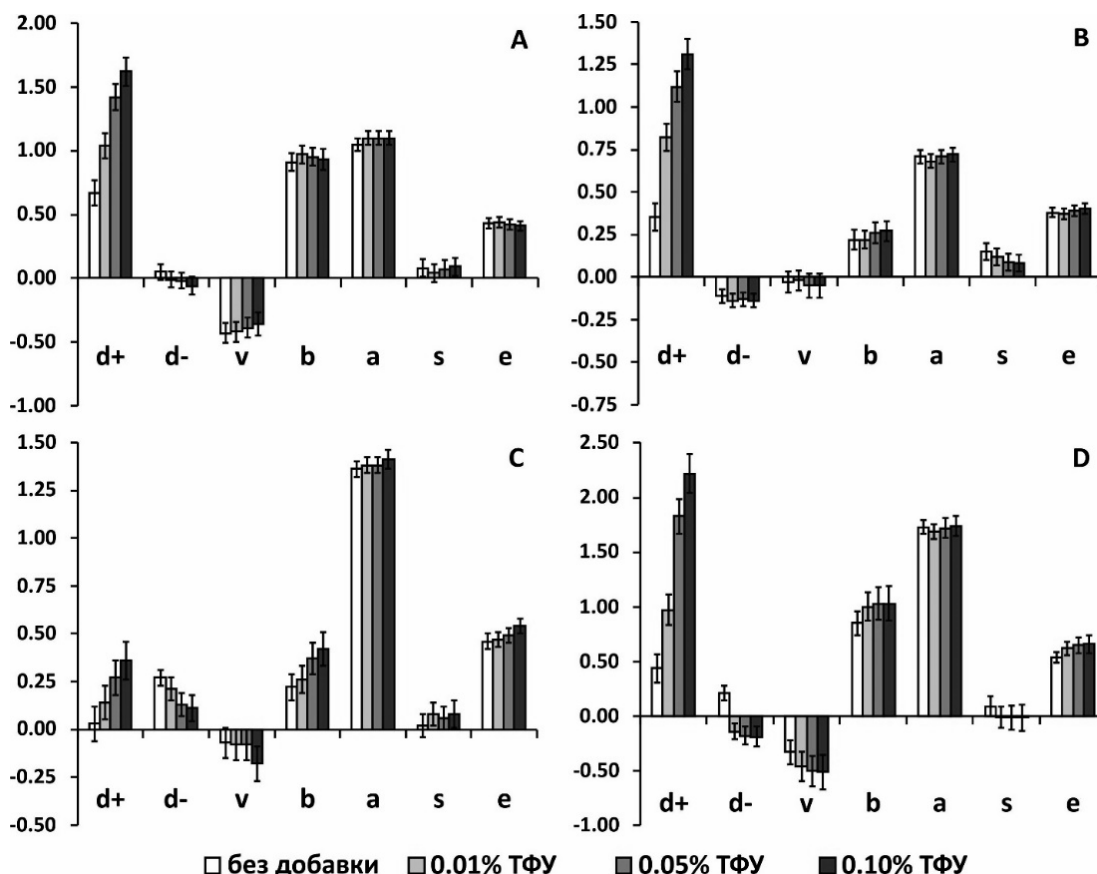
Влияние кислоты

Рисунок 4. Влияние трифторуксусной кислоты на ЛЗСС-параметры хроматографических систем; А – ВЕН, В – HSS Cyano, С – ВЕН 2-EP, D – Nucleodur HILIC.

В соответствии с полученными результатами, введение в систему трифторуксусной кислоты оказывает первостепенное влияние на коэффициенты, связанные с взаимодействиями с протонируемыми (параметр d^+) и депротонируемыми (параметр d^-) соединениями, то есть кислотами и основаниями (рисунок 4).

Для анализов, не обладающих ионизируемыми группами, изменений во временах удерживания не происходит. Для всех неподвижных фаз наблюдается увеличение коэффициента d^+ , соответственно, возрастает удерживание анализов-оснований, при этом наибольший эффект наблюдается для цвиттер-ионного сорбента, а наименьший – для этилпиридинового. Кроме того, введение кислоты приводит к уменьшению коэффициента d^- , в результате, для анализов-кислот наблюдается уменьшение коэффициентов удерживания.

Данный эффект можно объяснить изменением состояния самих анализов. В соответствии с литературными данными [7, 8], введение в систему кислот может понижать pH подвижной фазы вплоть до 1, что может подавлять диссоциацию анализов кислотной природы, и, напротив, приводить к переходу оснований в протонированную форму. В результате, положительно заряженные основные анализы будут удерживаться сильнее за счет ионных взаимодействий, в случае цвиттер-ионного сорбента – с отрицательно заряженной сульфогруппой. Молекулы же кислот, диссоциация которых, предположительно, подавлена, более не могут взаимодействовать с положительно заряженным участком неподвижной фазы.

Влияние основания

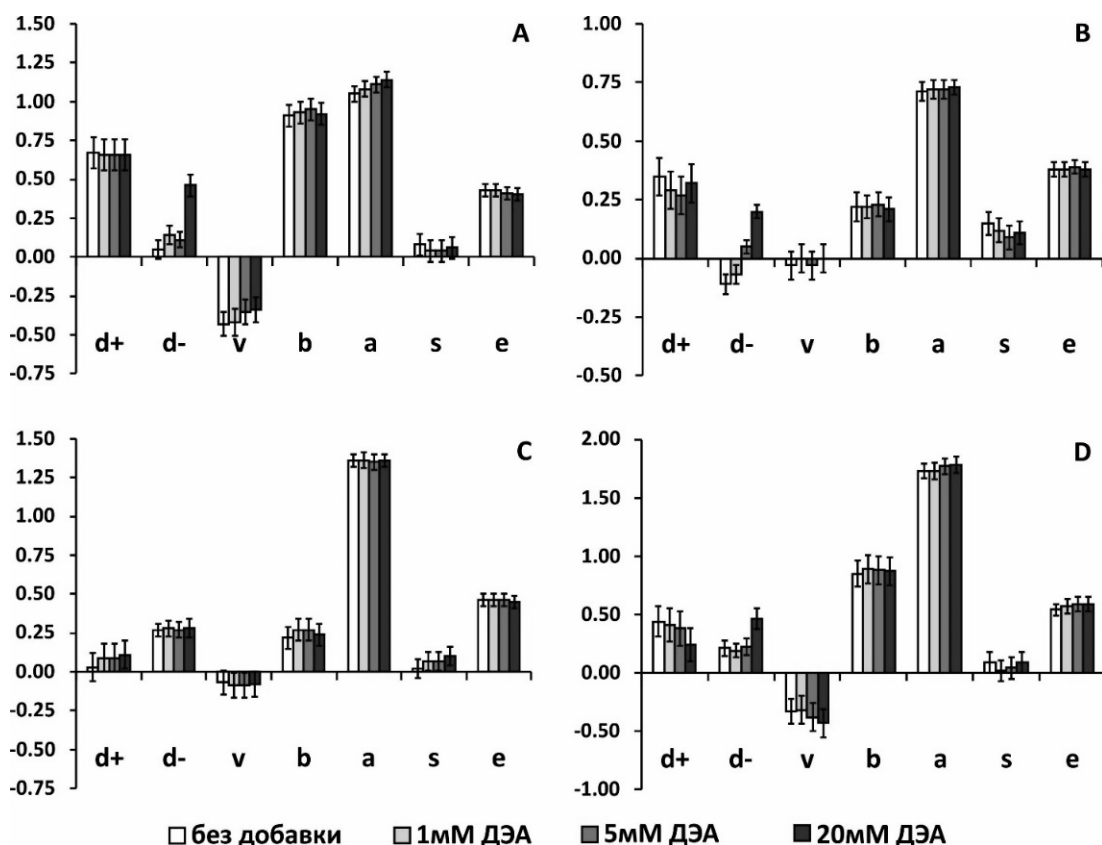


Рисунок 5. Влияние диэтиламина на ЛЗСС-параметры хроматографических систем; А – ВЕН, В – HSS Cyano, С – ВЕН 2-EP, D – Nucleodur HILIC.

Согласно полученным результатам (Рисунок 5), в случае немодифицированного силикагеля, цианофазы и цвиттер-ионного сорбента основная добавка приводит к существенному росту коэффициента d^- , следствием чего является повышенное удерживание анализов с кислотными функциональными группами. Коэффициент s для этих неподвижных фаз несколько увеличивается, а коэффициент b – напротив, уменьшается. В то же время, диэтиламин фактически не влияет на коэффициент a . Данный факт может расцениваться как доказательство значимости взаимодействий с ионизируемыми группами в удерживании анализов в условиях СФХ. Следовательно, необходимым становится использование расширенного набора дескрипторов, учитывающих такого рода взаимодействия.

В то же время, для соединений с основными группами существенных изменений в удерживании не наблюдается, что хорошо согласуется с тем фактом, что диэтиламин не влияет на коэффициенты d^+ и b .

В отличие от других неподвижных фаз, диэтиламин не оказывает существенного влияния на ЛЗСС-коэффициенты этилпиридинового сорбента. Этот эффект может наблюдаться вследствие того, что этилпиридиновый лиганд сам по себе экранирует активные силанольные группы, действуя аналогично основной добавке [9]. Тем не менее, для анализов кислотной природы наблюдается увеличение времен удерживания, хоть и незначительное по сравнению с другими сорбентами.

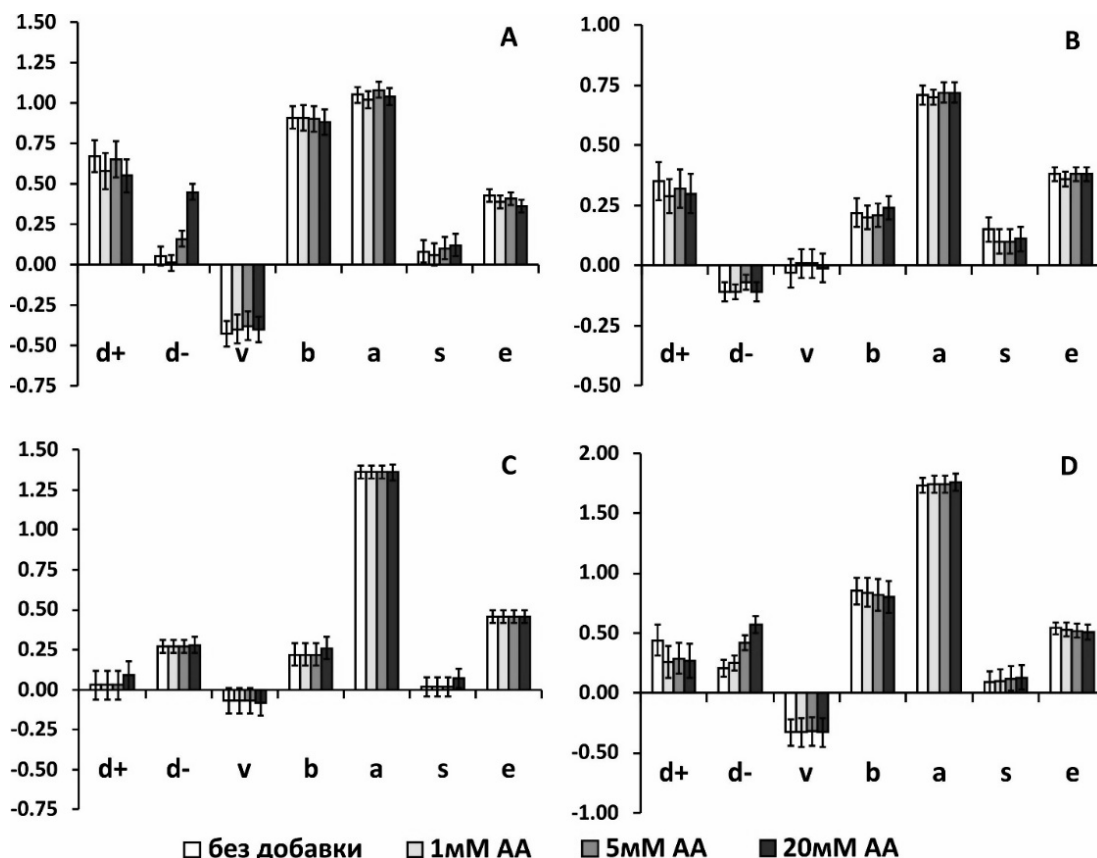
Влияние соли

Рисунок 6. Влияние ацетата аммония на ЛЗСС-параметры хроматографических систем; А – VEN, В – HSS Cyano, С – VEN 2-EP, D – Nucleodur HILIC.

Исходя из полученных данных (рисунок 6), можно отметить, что для немодифицированного силикагеля, а также для цвиттер-ионной фазы ацетат аммония оказывает эффект, аналогичный диэтиламину, но несколько более явно выраженный, и заключающийся в увеличении коэффициента d^+ , что приводит к повышенному удерживанию аналитов кислотной природы. Данный эффект может объясняться экранированием силанольных групп ионами аммония и ацетата [10]. В случае цвиттер-ионной фазы ацетат аммония дополнительно может блокировать отрицательно заряженные сульфогруппы.

Для этилпиридиновой неподвижной фазы, как и в случае с диэтиламином, ацетат аммония не влияет на ЛЗСС-коэффициенты. Аналогичный эффект наблюдается и для цианофазы. В то же время, введение добавки влияет на удерживание аналитов-кислот, но, по всей видимости, недостаточно, чтобы внести существенный вклад в ЛЗСС-коэффициенты.

Исходя из всего вышесказанного, можно отметить, что введение в систему солевого динамического модификатора в случае немодифицированного силикагеля, этилпиридинового и цвиттер-ионного сорбентов, оказывает эффект, аналогичный основной добавке (диэтиламину), при этом более ярко выраженный. Возможным объяснением данного явления может быть взаимодействие амина с диоксидом углерода с образованием соли карбамата аммония, которая будет действовать аналогично обычным солевым добавкам [11].

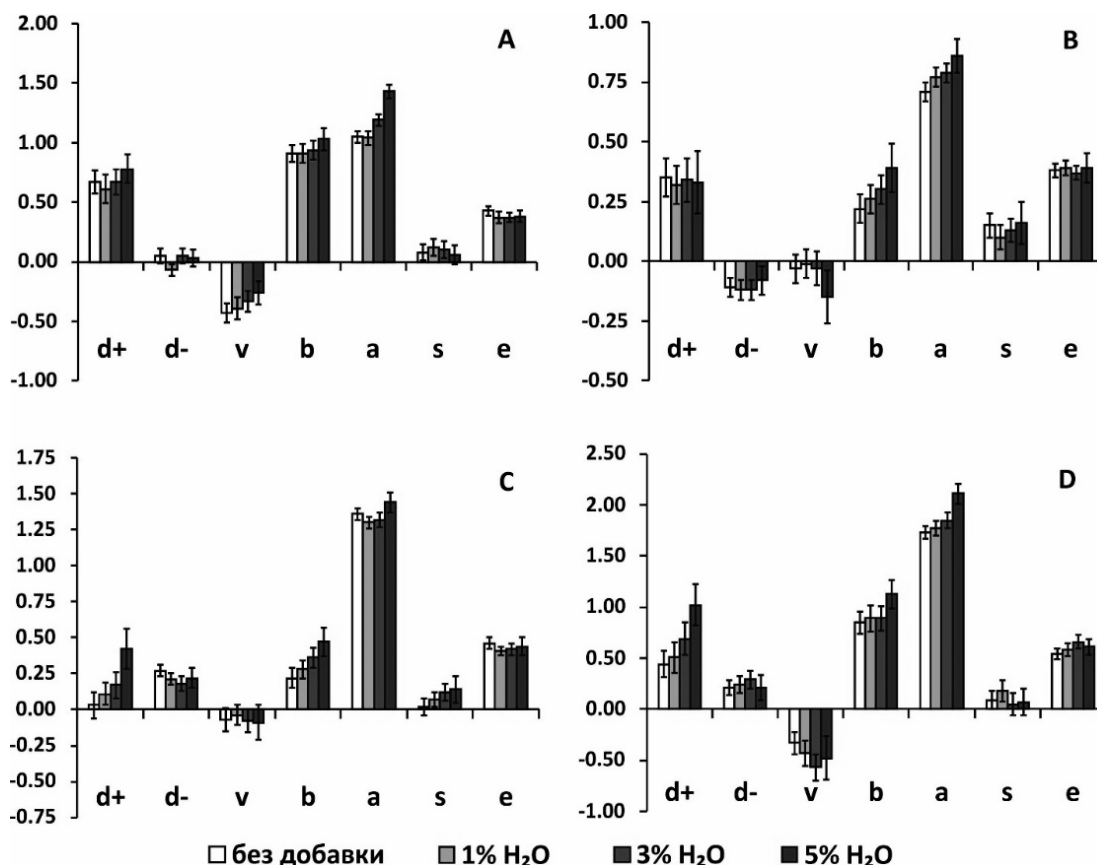
Влияние воды

Рисунок 7. Влияние воды на ЛЗСС-параметры хроматографических систем; А – ВЕН, В – HSS Cyano, С – ВЕН 2-EP, D – Nucleodur HILIC.

В соответствии с полученными данными (рисунок 7), вода существенно влияет на ЛЗСС-коэффициенты, оказывая комплексное воздействие на различные типы взаимодействий. В первую очередь, введение в подвижную фазу воды приводит к интенсификации водородно-связных взаимодействий. В частности, для силикагеля наблюдается существенный рост коэффициента a , что приводит к повышенному удерживанию соединений, способных выступать донорами протонов, например, фенолов и кислот. В то же время, в случае ПАУ и оснований, не обладающих подобными свойствами, изменений в удерживании не наблюдается.

Для цианофазы наблюдается увеличение коэффициентов a и b , соответственно, наблюдается рост удерживания всех соединений, способных участвовать в образовании водородных связей. В то же время, достаточно значимое возрастание коэффициента s , похоже, не приводит к существенным изменениям в удерживании.

Введение воды в подвижную фазу приводит к незначительным изменениям ЛЗСС-коэффициентов этилпиридинового сорбента, в частности, наблюдается увеличение коэффициента b , изменения остальных коэффициентов нельзя считать статистически значимыми. Соответственно, влияние воды на удерживание аналитов также незначительно.

В случае цвиттер-ионного сорбента вода приводит к аналогичным изменениям – существенно возрастают коэффициенты a и b . В то же время, на практике, напротив, наблюдается уменьшение времен удерживания всех компонентов.

В соответствии с результатами, представленными в главе 4, предлагается ряд рекомендаций, которые могут быть использованы при разделении аналитов с использованием полярных неподвижных фаз:

1. При разделении аналитов с кислотными или основными свойствами следует обращать внимание на коэффициенты d^+ и d^- , например, фаза с высоким коэффициентом d^- будет обладать повышенной селективностью по отношению к кислотам.

2. При анализе соединений с ионизируемыми группами необходимо введение в систему динамических модификаторов. Кислотные добавки ослабляют взаимодействие склонных к депротонированию аналитов с сорбентом, приводя к сокращению времени удерживания и улучшению формы пиков. Основные и солевые добавки могут оказывать аналогичный эффект на протонируемые соединения (основания).

3. Введение в систему воды приведёт к повышенному удерживанию аналитов, особенно – склонных к образованию водородных связей. С другой стороны, использование воды в сочетании с цвиттер-ионным сорбентом, напротив, позволит сократить время анализа.

4. При использовании подвижной фазы, содержащей не менее 10% соразтворителя, давление и температура играют второстепенную роль, и потому могут быть оптимизированы в последнюю очередь.

В главе 5 показана практическая реализация представленных в главе 4 рекомендаций на примере разделения ряда производных бензойной и коричной кислот.

В соответствии с представленными в главе 3 данными, все изученные неподвижные фазы демонстрируют склонность к водородносвязным взаимодействиям и взаимодействиям за счет n -/ π -электронов (e , s , a , $b > 0$), однако, цианопропильная фаза отличается низкой склонностью к взаимодействиям с кислотами ($d^- < 0$), в связи с чем не использовалась в дальнейших экспериментах. Таким образом, были выбраны следующие неподвижные фазы: ВЕН, ВЕН 2-EP, Nucleodur HILIC.

В соответствии с представленными в главе 4 результатами, для подавления избыточных взаимодействий сорбента и аналитов с кислотными функциональными группами необходимо введение в элюент кислоты. Наилучшие результаты были достигнуты при использовании 0,10% трифторуксусной кислоты, тогда как муравьиная кислота не подавляла нежелательные взаимодействия в полной мере.

Для исследуемых неподвижных фаз была оптимизирована программа градиентного элюирования, позволяющая добиться наилучшего разделения в целевом диапазоне значений коэффициентов емкости. Наилучшие результаты демонстрирует фаза ВЕН 2-EP, дающая максимальные разрешение и эффективность в сочетании с исключительной экспрессностью хроматографического анализа. Его продолжительность составляет 2,5 мин (рисунок 8), что в несколько раз ниже по сравнению с имеющимися литературными данными, основанными на применении ОФ ВЭЖХ [12].

Использование цвиттер-ионного сорбента также позволило добиться приемлемого разделения всех исследуемых соединений, но с существенно меньшей эффективностью. Весьма примечательной является идентичность порядка элюирования кислот для этилпиридинового и цвиттер-ионного сорбентов.

Изучение градуировочных растворов с концентрациями 0,20 – 20,0 мг/л показало соблюдение линейности градуировочных зависимостей площади пика от концентрации, с коэффициентом корреляции (r^2) более 0,995 для всех компонентов. Полученные

значения пределов обнаружения для исследуемых соединений лежат в диапазоне 13,0-51,3 мкг/л.

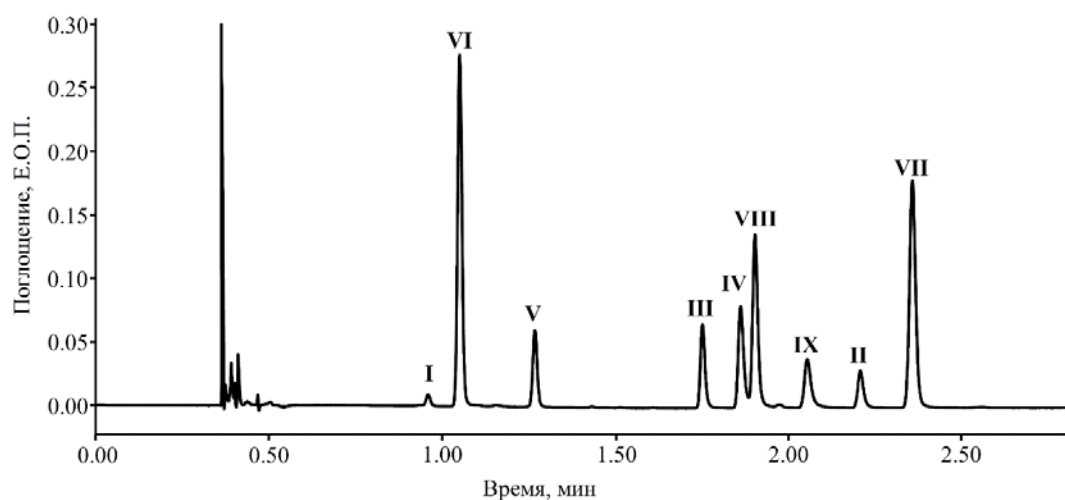


Рисунок 8. Хроматограмма стандартной смеси фенольных кислот на неподвижной фазе ВЕН 2-ЕР в оптимальных условиях. Кислоты: бензойная(I), 4-гидроксибензойная (II), ванилиновая (III), сиреневая (IV), вератровая (V), коричная (VI), кумаровая (VII), феруловая (VIII), синаповая (IX).

Для апробации разработанного подхода на реальных объектах проанализированы различные сорта вин. Полученные хроматограммы (рис. 9) показывают отсутствие существенных интерференций со стороны матрицы даже при минимальной пробоподготовке, а также достаточную чувствительность метода.

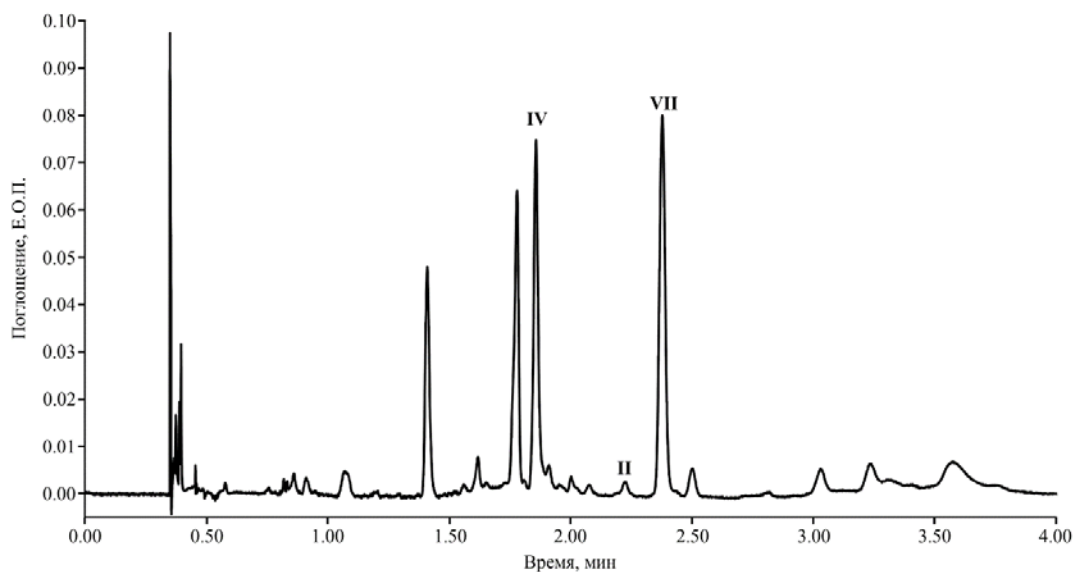


Рисунок 9. Хроматограмма фенольной фракции, выделенной из образца красного вина, на неподвижной фазе ВЕН 2-ЕР в оптимальных условиях.

Список цитируемой литературы:

1. Lesellier, E. Retention mechanisms in super/subcritical fluid chromatography on packed columns / E. Lesellier // *Journal of Chromatography A*. – 2009. – Vol. 1216. – P. 1881–1890.
2. Saito, M. History of supercritical fluid chromatography: Instrumental development / M. Saito // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. – 2013. – Vol. 115. – P. 590–599.
3. Deye, J.F. Nile Red as a solvatochromic dye for measuring solvent strength in normal liquids and mixtures of normal liquids with supercritical and near critical fluids / J.F. Deye, T.A. Berger, A.G. Anderson. // *Analytical Chemistry*. – 1990. – Vol. 62. – P. 615–622.
4. Gurdale, K. Methylene selectivity and eluotropic strength variations in subcritical fluid chromatography with packed columns and CO₂-modifier mobile phases / K. Gurdale, E. Lesellier, A. Tchaplal // *Analytical Chemistry*. – 1999. – Vol. 71. – P. 2164–2170.
5. West, C. An improved classification of stationary phases for ultra-high performance supercritical fluid chromatography / C. West, E. Lemasson, S. Bertin, P. Hennig, E. Lesellier // *Journal of Chromatography A*. – 2016. – Vol. 1440. – P. 212–228.
6. Иванов, Е.В. Химия растворов биологически активных веществ (Проблемы химии растворов) / Е.В. Иванов, В.К. Абросимов, В.Г. Баделин и др. — ОАО Издательство Иваново, 2016. — 528 с.
7. Berger, T.A. Role of additives in packed column supercritical fluid chromatography: suppression of solute ionization / T.A. Berger, J.F. Deye // *Journal of Chromatography A*. – 1991. – Vol. 547. – P. 377–392.
8. West, C. Unravelling the effects of mobile phase additives in supercritical fluid chromatography. Part I: Polarity and acidity of the mobile phase / C. West, J. Melin, H. Ansouri, M.M. Metogo // *Journal of Chromatography A*. – 2017. – Vol. 1492. – P. 136–143.
9. Ventura, M. Ammonia as a preferred additive in chiral and achiral applications of supercritical fluid chromatography for small, drug-like molecules / M. Ventura, B. Murphy, W. Goetzinger // *Journal of Chromatography A*. – 2012. – Vol. 1220. – P. 147–155.
10. Lemasson, E. Unravelling the effects of ammonium acetate in the SFC mobile phase / E. Lemasson, H. Ansouri, J. Melin, S. Bertin, C. West // *Материалы конференции «10th International conference on packed column SFC»*. – Vienna. – 2016.
11. Eckert, C.A. Sustainable reactions in tunable solvents / C.A. Eckert, C.L. Liotta, D. Bush, J.S. Brown, J.P. Hallett // *The Journal of Physical Chemistry B*. 2004. – Vol. 108. – P. 18108–18118.
12. Kukula-Koch, W. Influence of extraction procedures on phenolic content and antioxidant activity of Cretan barberry herb / W. Kukula-Koch, N. Aligiannis, M. Halabalaki, A. Skaltsounis, K. Glowniak, E. Kalpoutzakis // *Food Chemistry*. – 2013. – Vol. 138. – № 1. – P. 406–413.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итоги выполненного исследования:

- 1) С позиций метода линейной зависимости свободной энергии с применением расширенного уравнения Вест, учитывающего электростатические (e , s), водородно-связные (a , b) и ионные взаимодействия (d^+ , d^-), установлены закономерности, наблюдающиеся для ряда полярных неподвижных фаз в системе «неподвижная фаза-элюент-аналит» при варьировании давления, температуры, типа и концентрации динамического модификатора (кислота, основание, соль, вода).
- 2) Показана необходимость принятия во внимание ионных взаимодействий (d^+ , d^-) при характеристике неподвижных фаз и при изучении процессов, протекающих в системе «неподвижная фаза-элюент-аналит».
- 3) Выявлена относительно слабая зависимость удерживания, селективности и ЛЗСС-коэффициентов в СФХ на полярных фазах от давления и температуры, при оптимизации рядовых методик разделения эти параметры стоит рассматривать в последнюю очередь.

4) Установлено, что использование в качестве динамического модификатора кислот оказывает существенное влияние на интенсивность ионных взаимодействий: наблюдается увеличение коэффициента d^+ (повышенное удерживание аналитов-оснований) и уменьшение коэффициента d^- (пониженное удерживание аналитов-кислот). Возможным объяснением является снижение рН элюента, приводящее к протонированию или депротонированию самих аналитов.

5) Показан схожий характер действия основного и солевого динамических модификаторов: в большинстве случаев наблюдается рост d^- , следствием чего является повышенное удерживание аналитов-кислот, вероятно, за счёт экранирования остаточных силанольных групп сорбента. Возможным объяснением схожего эффекта различных типов модификаторов может быть взаимодействие амина с диоксидом углерода с образованием карбамата аммония. Отмечена индифферентность этилпиридинового сорбента по отношению к основным и солевым динамическим модификаторам, вследствие экранирования активных силанольных групп этилпиридиновым лигандом.

6) Установлено, что использование в качестве динамического модификатора воды оказывает комплексное воздействие на удерживание аналитов, увеличивая роль водородно-связных, а для некоторых неподвижных фаз – диполь-дипольных взаимодействий. Соответственно, наблюдается рост удерживания соединений, склонных к образованию водородных связей, в частности, кислот, оснований и фенолов. Несмотря на схожий характер изменения ЛЗСС-коэффициентов, для цвиттер-ионного сорбента введение воды приводит к уменьшению времен удерживания аналитов, а не к увеличению, как в случае других сорбентов.

7) Разработан экспрессный и высокочувствительный подход для определения ароматических кислот в водных матрицах с использованием 2-этилпиридинового сорбента и подвижной фазы, содержащей метанол с добавкой трифторуксусной кислоты. Разработанный подход успешно апробирован на реальных объектах – различных сортах вин.

Рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы. Полученные результаты демонстрируют перспективность использования метода линейной зависимости свободной энергии с применением расширенного уравнения, учитывающего ионные взаимодействия, для оценки влияния различных факторов на процессы, протекающие в системе «неподвижная фаза – элюент – аналит». Данный подход в дальнейшем может быть использован для оценки влияния широкого спектра параметров на механизмы удерживания в сверхкритической флюидной хроматографии на неподвижных фазах различной природы (неполярные, ароматические, на основе графитизированного углерода и т. д.).

Полученные данные по влиянию давления, температуры и состава подвижной фазы могут быть использованы для разработки подходов к анализу многокомпонентных смесей методом сверхкритической флюидной хроматографии.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. Овчинников, Д.В. Определение бензойных и коричных кислот методом сверхкритической флюидной хроматографии / Д.В. Овчинников, Д.С. Косяков, Н.В. Ульяновский, К.Г. Боголицын, Д.И. Фалёв, О.И. Покровский // Сверхкритические флюиды: теория и практика. – 2015. – Т.10. №2. – С. 17-30.

Ovchinnikov, D.V. Determination of natural aromatic acids using supercritical fluid chromatography / D.V. Ovchinnikov, D.S. Kosyakov, N.V. Ul'yanovskii, K.G. Bogolitsyn,

D.I. Falev, O.I. Pokrovskiy // Russian Journal of Physical Chemistry B. – 2016. – Vol. 10. – № 7. – P. 1062-1071.

2. Овчинников, Д.В. Характеристика неподвижной фазы Nucleodur HILIC в режиме сверхкритической флюидной хроматографии методом линейной зависимости энергии сольватации / Д.В. Овчинников, К.Г. Боголицын, Н.В. Ульяновский, Д.С. Косяков, Д.И. Фалёв, О.И. Покровский // Журнал физической химии. – 2018. – Т.92. – №4. – С. 651-658.

Ovchinnikov, D.V. The Properties of the Nucleodur HILIC Stationary Phase in Supercritical Fluid Chromatography / D.V. Ovchinnikov, K.G. Bogolitsyn, N.V. Ul'yanovskii, D.S. Kosyakov, D.I. Falev, O.I. Pokrovskii // Russian Journal of Physical Chemistry A. – 2018. – Vol. 92. – №4. – P. 793–798.

3. Овчинников, Д.В. Определение бензойных и коричных кислот методом сверхкритической флюидной хроматографии / Д.В. Овчинников, Н.В. Ульяновский, Д.С. Косяков, К.Г. Боголицын, Д.И. Фалёв, О.И. Покровский // Материалы докладов VIII Научно-практической конференции «Сверхкритические флюиды (СКФ): фундаментальные основы, технологии, инновации». – Зеленоградск, 2015. – С. 130-132.

4. Овчинников, Д.В. Исследование влияния добавок на удерживание аналитов на этилпиридиновой неподвижной фазе в условиях сверхкритической флюидной хроматографии / Д.В. Овчинников, К.Г. Боголицын, Н.В. Ульяновский, Д.С. Косяков, О.И. Покровский // Материалы III Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез». – Краснодар, 2017. – С. 160.

5. Овчинников, Д.В. Исследование влияния добавок на удерживание аналитов на цвиттер-ионной неподвижной фазе в условиях сверхкритической флюидной хроматографии / Д.В. Овчинников, К.Г. Боголицын, Н.В. Ульяновский, Д.С. Косяков, Д.И. Фалёв, О.И. Покровский // Материалы IX Научно-практической конференции «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации». – Сочи, 2017. – С. 229-231.

6. Bogolitsyn, K.G. Influence of the additives on the retention of analytes on the polar stationary phases under conditions of supercritical fluid chromatography / K.G. Bogolitsyn, D.V. Ovchinnikov, N.V. Ul'yanovskii, D.S. Kosyakov, D.I. Falev, O.I. Pokrovsky // 12th International Symposium on Supercritical Fluids. – Antibes Juan-les-Pins, 2018. – PC-01.

7. Овчинников, Д.В. Характеристика влияния динамических модификаторов на удерживание аналитов на полярных неподвижных фазах в сверхкритической флюидной хроматографии / Овчинников Д.В. // Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2018». – Москва, 2018.

8. Овчинников, Д.В. Исследование влияния различных параметров на удерживание аналитов на полярных неподвижных фазах в условиях сверхкритической флюидной хроматографии / Д.В. Овчинников, К.Г. Боголицын, Н.В. Ульяновский, Д.С. Косяков, О.И. Покровский // Материалы X Научно-практической конференции «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации». – Ростов-на-Дону, 2019.