

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
(ФГБОУ ВО «ВГУ»)

На правах рукописи



**ЗАВАЛЮЕВА АЛИНА СЕРГЕЕВНА**

**КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ И РАЗДЕЛЕНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ  
СОЕДИНЕНИЙ НА УПОРЯДОЧЕННЫХ КРЕМНЕЗЕМАХ SWA-15  
В ВАРИАНТАХ ТВЕРДОФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ И ЖИДКОСТНОЙ  
ХРОМАТОГРАФИИ НИЗКОГО ДАВЛЕНИЯ**

1.4.2. Аналитическая химия

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научный руководитель  
доктор химических наук,  
доцент Карпов С.И.

Воронеж 2025

## Содержание

ВВЕДЕНИЕ.....	7
Глава 1. Литературный обзор.....	14
1.1 Общая характеристика флавоноидов.....	14
1.2 Твердофазная экстракция как стадия пробоподготовки при выделении и определении флавоноидов .....	16
1.2.1 Варианты твердофазной экстракции в извлечении, концентрировании и очистке флавоноидов .....	19
1.2.1.1 Матричное твердофазное диспергирование.....	19
1.2.1.2 Дисперсионная твердофазная экстракция .....	21
1.3. Методы определения полифенольных соединений.....	25
1.4 Упорядоченные мезопористые кремнеземы .....	27
1.5 Селективность упорядоченных кремнеземов в процессах сорбционного концентрирования .....	29
1.5.1 Модификация упорядоченных кремнеземов органическими функциональными группами .....	33
1.5.2 Модификация упорядоченных мезопористых кремнеземов ионами металлов .....	34
1.5.3 Упорядоченные мезопористые кремнеземы с молекулярными отпечатками аналитов.....	35
1.6 Варианты твердофазной экстракции с использованием упорядоченных мезопористых кремнеземов.....	37
1.6.1 Классическая твердофазная экстракция .....	37
1.6.2 Современные варианты твердофазной экстракции с использованием упорядоченных мезопористых кремнеземов.....	39
Заключение к Литературному обзору .....	47
Глава 2. Экспериментальная часть .....	49
2.1 Объекты исследования .....	49
2.1.1 Флавоноиды .....	49
2.1.2 Коричные кислоты .....	50

2.1.3 Аскорбиновая кислота .....	51
2.1.4 Упорядоченные кремнеземы.....	52
2.2.4.1 Модификация упорядоченных мезопористых кремнеземов триметилхлорсиланом .....	56
2.2 Методики анализа .....	56
2.2.1 Спектрофотометрическое определение полифенольных соединений .....	56
2.2.1.1 Определение флавоноидов в индивидуальных растворах.....	56
2.2.1.2 Определение полифенольных соединений при совместном присутствии .	58
2.2.2 Исследование структурообразования неионогенного ПАВ в растворе методом динамического рассеяния света.....	63
2.2.3 Изучение структуры и пористости кремнеземов методом низкотемпературной адсорбции/десорбции азота.....	64
2.2.4 Изучение структуры и гидратации кремнеземов методом ИК-спектроскопии .....	65
2.2.5 Сорбционное концентрирование полифенольных соединений на упорядоченных кремнеземах .....	66
2.2.5.1 Изучение сорбции флавоноидов на упорядоченных кремнеземах в статических условиях.....	66
2.2.5.2 Изучение сорбционных свойств упорядоченных кремнеземов методом выходных кривых.....	66
2.2.6 Твердофазная экстракция флавоноидов из модельных растворов .....	68
2.2.6.1 Твердофазная экстракция из модельных растворов рутина в присутствии коричных кислот .....	68
2.2.7 Упорядоченные мезопористые кремнеземы при анализе реальных объектов .....	69
2.2.7.1. Дисперсионная твердофазная экстракция .....	69
2.2.7.2 Твердофазная экстракция полифенольных веществ из растительных объектов.....	69
2.2.7.3 Матричное твердофазное диспергирование.....	70
2.3 Математическая обработка результатов эксперимента .....	71

Глава 3. Варьирование структуры и сорбционных свойств упорядоченных мезопористых кремнезёмов при их синтезе .....	73
3.1. Изучение особенностей структурообразования блоксополимера Pluronic P123 как шаблона при синтезе упорядоченных мезопористых кремнезёмов.....	73
3.1.1 Влияние температуры на мицеллообразование Pluronic P123 .....	74
3.1.2 Влияние добавок бутанола-1 на структуру мицелл Pluronic P123.....	76
3.1.3 Влияние этанола на мицеллообразование Pluronic P123 .....	80
3.1.4 Размер и дисперсность мицелл Pluronic P123 в присутствии кверцетина .....	82
3.2 Структурные и поверхностные свойства синтезированных кремнезёмов.....	86
3.2.1 Характеристика кремнезёмов по данным ИК-спектроскопии .....	86
3.2.2 Характеристика кремнезёмов по данным низкотемпературной адсорбции/десорбции азота.....	93
Заключение к главе 3 .....	94
Глава 4. Упорядоченные мезопористые кремнезёмы при сорбционном извлечении флавоноидов из индивидуальных растворов .....	96
4.1 Сорбционное извлечение кверцетина из ацетонитрильных растворов упорядоченными кремнезёмами в статических условиях .....	97
4.1.1 Сорбция кверцетина на кремнезёмах разной структуры и упорядоченности.....	97
4.1.2 Сорбция кверцетина на кремнезёмах с молекулярными отпечатками потенциальных аналитов.....	98
4.1.3 Сорбция кверцетина на упорядоченных кремнезёмах при варьировании состава растворителя .....	100
4.2 Сорбционное извлечение флавоноидов из ацетонитрильных растворов в динамических условиях.....	104
4.2.1 Концентрирование флавоноидов на кремнезёмах с разным размером пор .....	105
4.2.2 Концентрирование флавоноидов на аналогах SBA-15 с молекулярными отпечатками потенциальных аналитов .....	108
4.2.3 Концентрирование флавоноидов на кремнезёмах с разным типом структуры .....	109

4.2.4 Концентрирование флавоноидов на аналогах SBA-15, модифицированных триметилхлорсиланом .....	111
4.3 Оценка хроматографической эффективности при сорбционном концентрировании флавоноидов на упорядоченных кремнеземах .....	112
4.4 Оптимизация сорбционного концентрирования флавоноидов в динамических условиях .....	114
4.5 Десорбция флавоноидов из слоя упорядоченных кремнезёмов.....	120
4.6 Возможность повторного использования упорядоченных мезопористых кремнезёмов в ТФЭ.....	123
Заключение к главе 4 .....	125
Глава 5. Сорбционное извлечение, концентрирование и разделение полифенольных веществ на упорядоченных кремнеземах для определения флавоноидов .....	127
5.1 Упорядоченные кремнезёмы в процессах разделения веществ с близкой структурой при жидкостной хроматографии низкого давления.....	128
5.1.1 Разделение флавоноидов на упорядоченных кремнеземах .....	128
5.1.2 Разделение рутина и кофейной кислоты на аналогах SBA-15 .....	131
5.1.3 Разделение рутина и аскорбиновой кислоты .....	135
5.2 Селективность аналогов SBA-15 при динамическом сорбционном концентрировании флавоноидов .....	138
5.2.1 Концентрирование рутина в присутствии аскорбиновой кислоты.....	138
5.2.2 Концентрирование рутина в присутствии коричных кислот с разным числом гидроксильных групп.....	140
5.3 Варианты твердофазной экстракции при извлечении, очистке и концентрировании полифенольных соединений с использованием синтезированных упорядоченных кремнезёмов .....	143
5.3.1 Классическая твердофазная экстракция с использованием синтезированных сорбентов.....	144
5.3.2 Дисперсионная твердофазная экстракция .....	147

5.3.3 ТФЭ с использованием синтезированных упорядоченных кремнеземов при извлечении, очистке полифенольных веществ и анализе растительных объектов .....	148
5.3.3.1 Матричное твердофазное диспергирование .....	152
Заключение к главе 5 .....	158
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	160
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....	163
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	166

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования**

Многие полифенольные соединения обладают высокой биологической активностью, поэтому представляет интерес их определение в растительном сырье и фармацевтических препаратах. Для улучшения метрологических характеристик методик определения целевых веществ необходимо повышение концентрации аналитов в анализируемом растворе и устранение мешающего влияния матричных компонентов. Наиболее часто это достигается в процессе твердофазной экстракции (ТФЭ). В качестве альтернатив традиционной ТФЭ появляются новые варианты пробоподготовки, позволяющие снизить расход сорбентов, растворителей, а также сократить число стадий и время анализа в целом. Среди них можно выделить дисперсионную ТФЭ, матричное твердофазное диспергирование, твердофазную микроэкстракцию и т.д. При этом в качестве сорбентов при определении полифенолов преимущественно применяют неупорядоченные силикагели, в том числе с привитыми функциональными группами, которые не позволяют достигать высокой эффективности и селективности в процессах выделения, очистки и концентрирования веществ. Повышение селективности при извлечении целевых компонентов из сложных образцов достигается на полимерах с молекулярными отпечатками потенциальных аналитов. Однако при использовании таких материалов при твердофазной экстракции остается проблема недостаточной эффективности сорбционного концентрирования, особенно для аналитов с объемной молекулой, к которым можно отнести гликозиды флавоноидов.

В настоящее время развитие подходов к пробоподготовке связано с использованием новых твердофазных материалов. Упорядоченные мезопористые кремнеземы (МСМ-41, SBA-15, KIT-6 и др.) характеризуются высокоразвитой поверхностью, контролируемым размером пор и типом структуры. Особенно стоит отметить изменение природы и удельной плотности сорбционных центров на поверхности мезопор кремнеземов в процессе синтеза, что позволяет получать

сорбенты с учетом особенностей потенциальных аналитов. Варьирование природы сорбционных центров ранее уже рассматривалось для МСМ-41, однако мало изучено для кремнеземов SBA-15, которые являются более подходящими для использования в пробоподготовке за счет высокой стабильности. Особого внимания требуют материалы, полученные с молекулярными отпечатками потенциальных аналитов.

Для упорядоченных кремнеземов отмечена высокая хроматографическая эффективность слоя за счет минимальной дисперсии свойств. Это позволяет предполагать возможность разделения веществ с близкой структурой в условиях жидкостной хроматографии без использования систем высокого давления для последующего определения целевых компонентов неселективными, но экспрессными методами анализа (например, спектрофотометрии). Ранее это направление исследований практически не рассматривалось.

#### **Степень разработанности темы исследования**

В работах Galarneau A. показано, что упорядоченность мезопористых кремнеземов позволяет достигать более высокой эффективности слоя сорбента по сравнению с классическими силикагелями и полимерными сорбентами в условиях ВЭЖХ.

В настоящее время активно развиваются подходы к пробоподготовке, основанные на дисперсионной твердофазной экстракции, матричном твердофазном диспергировании, микротвердофазной экстракции и т.д. Упорядоченные мезопористые кремнеземы нашли применение как сорбенты при извлечении и концентрировании ионов металлов и токсичных органических соединений при их определении в природных объектах. В меньшей степени рассмотрено использование мезопористых материалов в аналитическом цикле при определении биологически активных веществ, в том числе полифенолов. Недостаточно рассматриваются вопросы выбора сорбентов для ТФЭ, в том числе с учетом роли упорядоченности кремнеземов, а также преимуществ в точности и прецизионности анализа растительных объектов, содержащих полифенолы, при использовании наноструктурированных материалов.

**Целью** представленной диссертационной работы является изучение закономерностей сорбционного концентрирования и разделения полифенольных соединений в вариантах твердофазной экстракции и жидкостной хроматографии низкого давления на упорядоченных сорбентах, аналогах SBA-15, для последующего определения целевых веществ в многокомпонентных объектах анализа.

Для достижения поставленной цели сформулированы следующие **задачи**:

1. Изучить структурообразование блоксополимера Pluronic P123 как темплата для получения наноструктурированных кремнезёмов с малой дисперсией свойств и повышения их селективности по отношению к полифенольным соединениям при их извлечении и концентрировании.

2. Оценить эффективность динамического сорбционного концентрирования полифенольных соединений из модельных растворов на синтезированных мезопористых кремнезёмах для последующего спектрофотометрического и/или хроматографического определения флавоноидов.

3. Изучить особенности пробоподготовки растительного сырья и фармацевтических препаратов в вариантах твердофазной экстракции с использованием мезопористых аналогов SBA-15 для последующего спектрофотометрического и хроматографического определения флавоноидов в сложных многокомпонентных матрицах.

4. Рассмотреть особенности разделения полифенольных веществ с близкой структурой и физико-химическими свойствами при жидкостной хроматографии низкого давления на наноструктурированных мезопористых твердофазных материалах для последующего определения целевых веществ.

### **Научная новизна**

Впервые предложен способ синтеза мезопористых кремнезёмов с молекулярными отпечатками потенциальных аналитов, основанный на учете структурообразования темплата в зависимости от температуры, состава растворителя, концентрации флавоноида, что позволило регулировать

селективность сорбентов к целевым и примесным компонентам для достижения максимальной (до 95-99%) полноты извлечения аналитов.

Предложены критерии оценки упорядоченности структуры мезопористых кремнеземов по данным ИК-спектроскопии, предполагающие рассмотрение максимума полосы валентных колебаний групп Si-O-Si матрицы кремнезема, что позволяет регулировать эффективность наноструктурированных материалов при селективном извлечении флавоноидов в вариантах твердофазной экстракции, а также варьировать свойства упорядоченных кремнеземов для разделения близких по свойствам флавоноидов и коричневых кислот.

Изучено влияние содержания воды в ацетонитрильных растворах (по данным ИК-спектроскопии) на сорбционное извлечение полифенольных веществ для их последующего спектрофотометрического определения.

Проведена оценка эффективности сорбционного концентрирования флавоноидов из модельных растворов веществ с близкой структурой с использованием параметра эффективности  $CE$  (коэффициент концентрирования, достигаемый в единицу времени при заданной степени извлечения компонента). Это позволило повысить точность и правильность определения аналитов благодаря значительному увеличению их полноты извлечения и коэффициентов концентрирования. Указанные улучшения обеспечиваются достижением максимальной степени использования сорбционной емкости упорядоченных аналогов SBA-15 в динамических условиях (при ТФЭ извлечении и концентрировании флавоноидов, а также их хроматографическом разделении). Наиболее существенные изменения селективности к флавоноидам отмечены при использовании в ТФЭ в качестве сорбентов кремнеземов с молекулярными отпечатками потенциальных аналитов.

Показана возможность использования полученных упорядоченных кремнеземов в пробоподготовке для селективного извлечения, очистки и концентрирования флавоноидов в вариантах твердофазной экстракции: матричном твердофазном диспергировании флавоноидов при их определении в растительном

сырье; для дисперсионной твердофазной экстракции полифенольных соединений при анализе фармацевтических препаратов.

Показана возможность спектрофотометрического определения флавоноидов в многокомпонентных смесях близких по свойствам полифенольных веществ после предварительного разделения компонентов пробы на упорядоченном кремнеземе с молекулярными отпечатками потенциального аналита.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные в диссертационной работе теоретические и экспериментальные результаты могут быть использованы при выборе рациональных условий извлечения и концентрирования биологически активных соединений с применением упорядоченных мезопористых кремнеземов для последующего анализа растительных и фармацевтических объектов. Наноструктурированность аналогов SBA-15 с высокой сорбционной емкостью и значительной доступностью сорбционных центров позволяет реализовывать микроэкстракцию аналитов на картриджах, заполненных навесками кремнеземов в 4-10 раз меньшей массы (50-100 мг) по сравнению с традиционно используемыми картриджами (200-500 мг), заполненными классическими силикагелями.

### **Методология и методы исследования**

В работе использовали современные физические и физико-химические методы анализа. Исследование структурообразования блоксополимера Pluronic P123 в растворах проводили методом динамического рассеяния света. Поверхностные и структурные характеристики синтезированных кремнеземов изучали методами ИК-спектроскопии и низкотемпературной адсорбции/десорбции азота. Концентрирование полифенолов проводили в вариантах твердофазной экстракции в динамических условиях на наноструктурированных кремнеземах SBA-15. Разделение флавоноидов и коричных кислот проводили жидкостной хроматографией низкого давления. Варианты твердофазной экстракции (матричного твердофазного диспергирования (МТФД) и дисперсионной твердофазной экстракции (д-ТФЭ) использовали для селективного извлечения полифенолов из многокомпонентных матриц и их относительного и абсолютного

концентрирования. Определение полифенольных соединений в растворах после пробоподготовки в вариантах ТФЭ осуществляли методами спектрофотометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Условия золь-гель синтеза сорбентов, аналогов SBA-15, с учетом структурообразования темплата, при варьировании температуры и состава реакционной системы, позволяющие получать упорядоченные кремнеземы с более высокой селективностью к флавоноидам по сравнению с немодифицированными наноструктурированными кремнеземами.

2. Способ повышения эффективности сорбционного концентрирования полифенольных соединений в динамических условиях, основанный на использовании наноструктурированных кремнезёмов SBA-15 и аналогов с молекулярными отпечатками аналитов с высокоразвитой поверхностью мезопор, существенной ее доступностью для полифенольных веществ, позволяющий повысить коэффициенты концентрирования флавоноидов.

3. Подход к использованию наноструктурированных сорбентов, аналогов SBA-15, на стадии пробоподготовки в вариантах дисперсионной твердофазной экстракции, матричного твердофазного диспергирования и твердофазной микроэкстракции для определения флавоноидов в экстрактах растительного сырья и фармацевтических препаратах.

4. Результаты разделения веществ с близкой структурой методом жидкостной хроматографии низкого давления на сорбентах, аналогах SBA-15, модифицированных триметилхлорсиланом и синтезированных с молекулярными отпечатками кверцетина.

### **Личный вклад автора**

Автором проведено изучение структурообразования шаблонов и синтез мезопористых кремнезёмов. Получены, обработаны и проанализированы экспериментальные данные по концентрированию и разделению полифенольных соединений в динамических условиях из модельных растворов и реальных

объектов с последующим определением целевых компонентов. Совместно с научным руководителем сформулированы основные положения и выводы по диссертации.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность полученных результатов обусловлена использованием комплекса физических и физико-химических методов анализа с применением современного сертифицированного оборудования, а также согласованием с известными литературными данными по близким тематикам.

По материалам диссертации опубликовано 18 работ, из них 5 статей в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК и индексируемых в Scopus, в том числе 3 статьи, индексируемых в Web of Science. Основные результаты работы представлены и доложены на IX Межвузовской конференции-конкурсе «Физическая химия - основа новых технологий и материалов» (г. Санкт-Петербург, 2020), IX Всероссийской конференции с международным участием «Физико-химические процессы в конденсированных средах и на межфазных границах – ФАГРАН» (г. Воронеж, 2021, 2024), Международной научно-практической конференции «Перспективные технологии и материалы» (г. Севастополь, 2022), IV Всероссийской Школа-семинаре «Сорбция и хроматография» с международным участием (г. Воронеж, 2023), Всероссийской с международным участием школе-конференции «Материалы и технологии XXI века» (г. Казань, 2023), Всероссийской конференции «Поверхностные явления в дисперсных системах» (г. Москва, 2023), XIV конференции молодых ученых по общей и неорганической химии (г. Москва, 2024), XXII Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Федеральная территория «Сириус», 2024), XXI Всероссийском симпозиуме с международным участием «Физико-химические проблемы адсорбции, структуры и химии поверхности нанопористых материалов» (г. Москва, 2025).

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, списка литературы, включающего 210 наименований. Работа изложена на 191 странице, содержит 57 рисунков и 35 таблиц.

## Глава 1. Литературный обзор

### 1.1 Общая характеристика флавоноидов

Флавоноиды – природные биологически активные соединения, вторичные метаболиты растений. Защищают растения от ультрафиолетового излучения, абиотических стрессов, бактериальных и грибковых фитопатогенов [1]. Многие флавоноиды используются в качестве лекарственных средств благодаря их антиоксидантным, противовоспалительным, антиаллергическим, антимуtagenным, и другим свойствам [2].

Вместе с фенольными кислотами, стильбенами и лигнанами флавоноиды составляют группу полифенольных соединений [1]. Структура флавоноидов образована двумя бензольными кольцами (А и В), соединенных трехуглеродным пирановым кольцом С (рис. 1.1) [3]. Классификация флавоноидов проводится в зависимости от структуры трёхуглеродного фрагмента, который может содержать двойную связь, карбонильную или гидроксильную группы, способен к образованию пяти- или шестичленного гетероциклического кольца, содержащего атом кислорода (рис. 1.2). Многообразие флавоноидов обусловлено замещением атомов водорода в углеродном скелете на -ОН и -СН<sub>3</sub>-группы в различных положениях, а также способностью к окислению с образованием родственных структур [3].

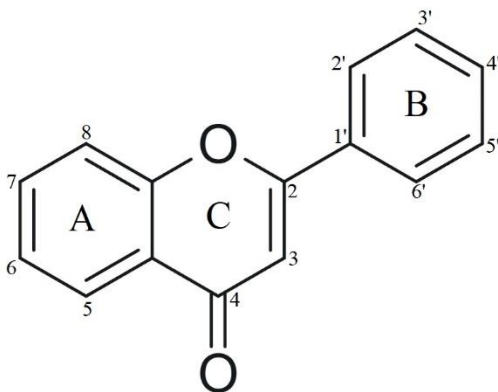
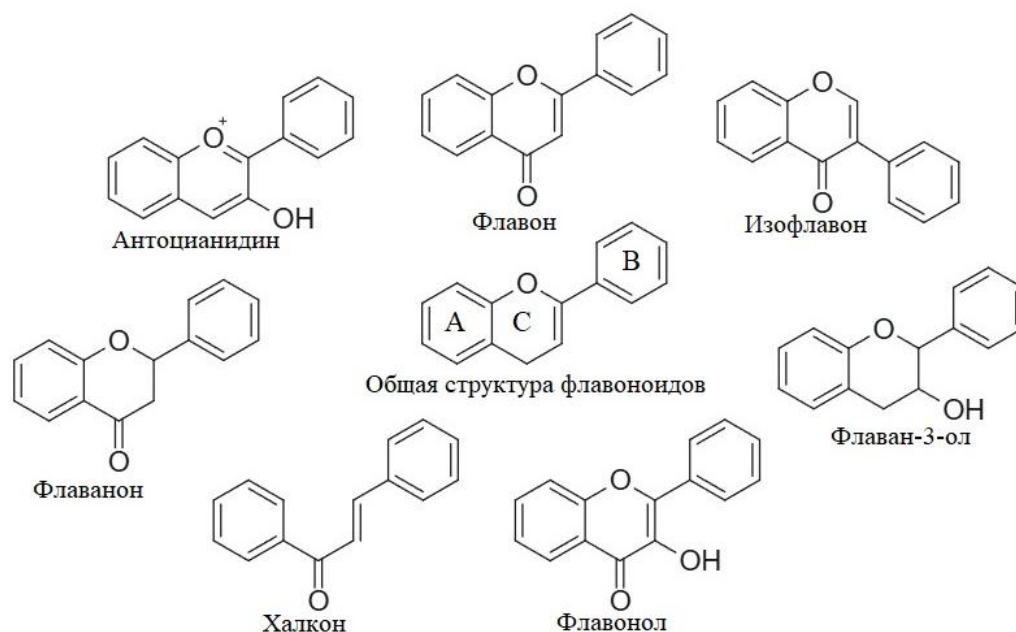


Рис. 1. 1. Общая структура флавоноидов.



**Рис. 1.2.** Структурные формулы основных подгрупп флавоноидов.

Флавоноиды встречаются в свободном виде (агликоны) и в связанном с углеводной частью (гликозиды) в форме O- и C-гликозидов. Как отмечено авторами работы [1], гликозилирование флавоноидов повышает их биодоступность за счет улучшения растворимости и транспорта через клеточные мембраны. Биологическая активность флавоноидов определяется наличием и положением гидроксильных групп [4]. Использование полифенолов предполагает их выделение с высокой степенью чистоты. Сложность составов экстрактов растительных образцов вызывает необходимость совершенствования методов пробоподготовки с сорбционным извлечением, концентрированием и разделением веществ на сорбентах, позволяющих достигать высокой точности определения с минимальными потерями аналита.

Несмотря на развитие методов определения актуальной задачей остается совершенствование способов пробоподготовки с использованием новых материалов с контролируемыми свойствами. Наиболее часто в качестве сорбентов используются силикагели благодаря возможности модификации поверхности и повышения селективности разделения компонентов пробы. Неупорядоченность традиционных силикагелей может приводить к недостаточной воспроизводимости

результатов, значительным потерям определяемых компонентов. В последнее время на стадии пробоподготовки разных групп анализов используются упорядоченные мезопористые кремнеземы [5, 6]. Малая дисперсия свойств наноструктурированных материалов обуславливает существенное влияние структурных и поверхностных характеристик на их селективность по отношению к веществам различной природы. Однако недостаточно рассмотрены вопросы синтеза упорядоченных кремнеземов для последующего использования при извлечении, концентрировании и очистке многокомпонентных проб, содержащих полифенольные соединения в различных вариантах твердофазной экстракции.

## **1.2 Твердофазная экстракция как стадия пробоподготовки при выделении и определении флавоноидов**

Природные объекты представляют собой сложные многокомпонентные системы, поэтому необходимо проведение выделения, очистки, концентрирования, в некоторых случаях обработки химическими реагентами для повышения чувствительности определения целевых веществ. Методы выделения флавоноидов включают жидкостную [7–10] и твердофазную [11–14] экстракцию. Традиционные варианты этих методов требуют больших затрат образцов и растворителей, длительного времени, в некоторых случаях действия высоких температур, в результате чего флавоноиды могут подвергаться химическим превращениям. Таких ограничений нет у современных экстракционных методов, включающих экстракцию с помощью микроволн, ультразвука [10], жидкостную экстракцию под давлением, сверхкритическую флюидную экстракцию, экстракцию с помощью ударной волны.

В последнее время на смену жидкостной экстракции приходит твердофазная (ТФЭ) [15]. Преимущества ТФЭ связаны со снижением затрат растворителей и образца, а также возможность автоматизации. При выделении и разделении полифенольных веществ из природных объектов широко используют полимерные сорбенты, силикагель, силикагель с привитыми алкильными группами.

Выделение и концентрирование флавоноидов важно для определения их содержания в растительном сырье, биологических жидкостях, фармацевтических препаратах. Традиционно для извлечения твердофазными материалами используются силикагели, кремнеземы с привитыми функциональными группами С18 [11, 16] (в том числе ионными жидкостями [17]). Благодаря особенностям структуры и присутствию полифенольных групп, их способности участвовать в различного рода взаимодействиях (протолитических и комплексообразовании), полифенольные компоненты могут извлекаться твердофазными материалами различной природы, как матрицы (полимерные и неорганические), так и функциональных групп, способных к специфическим взаимодействиям. В качестве многообразия сорбентов для рассматриваемой цели важно указать работы по использованию ионообменников [11, 18], полимерных сорбентов [11, 16, 19, 20], углеродных материалов [21] и др. Как отмечено авторами работы [22], при концентрировании веществ на углеродных материалах возможны значительные потери аналитов вследствие необратимой сорбции: степени извлечения некоторых фенольных кислот и флавоноидов при концентрировании на непористом графитированном углероде не превышают 60 %.

Важно рассмотреть особенности сорбентов, применяемых при выделении, разделении, очистке флавоноидов, в том числе с целью их последующего определения в многокомпонентных матрицах растительных материалов. Авторы работы [23] синтезировали магнитный сорбент на основе фенол-формальдегидных смол с последующей модификацией по реакции Манниха для разделения и очистки флавоноидов из листьев *Lycium barbarum*. Модификация поверхности сорбента позволила увеличить степень извлечения флавоноидов из растительного образца на 25%.

Авторы работы [24] синтезировали композиты хитозановых аэрогелей с аминзамещенным имидазолиевым цеолитом, для сорбционного разделения и очистки флавоноидов (кверцетина, рутина и лютеноила). Как отмечено авторами [24], вид динамической выходной кривой рутина указывает на наложение нескольких механизмов сорбции, что приводит к заметному размыванию и

появлению ступеней. Это не позволяет достигать высокой эффективности сорбционного концентрирования. Существенное влияние на сорбцию флавоноидов в динамических условиях оказывает природа и состав подвижной фазы. При десорбции этанолом, подкисленным соляной кислотой (1 %) для элюирования требуется большой объем растворителя.

В работе [25] проводили ТФЭ флавоноидов на металл-органических каркасах типа ядро-оболочка. Авторами отмечено, что гидрофобизация поверхности позволяет снизить влияние присутствия воды в растворе и проводить концентрирование с использованием картриджей в десятки или даже сотни раз меньшей массой (5 мг) по сравнению с традиционными вариантами твердофазной экстракции аналитов с сопоставимыми аналитическими характеристиками. В этом случае пределы обнаружения полифенолов при ВЭЖХ-определении с диодно-матричным детектированием составили 0.04-0.08 нг/мл.

В работах [12, 26–31] рассматриваются полимеры с молекулярными отпечатками (ПМО) флавоноидов. Такие сорбенты в работах [12, 26] используются для твердофазной экстракции агликонов флавоноидов из растительного сырья. Широко применяются ПМО для распознавания кверцетина [27], его селективной экстракции (выделения) [26, 28, 31], в том числе, для последующего определения в растительном сырье. В качестве твердофазных материалов при экстракции флавоноидов рассматриваются ПМО, легированные оксидом графена [32]. Авторы работы [33] синтезировали флороглюцино-меламино-формальдегидные смолы с молекулярными отпечатками кверцетина. Отмечена высокая селективность полученного полимера к кверцетину и его структурным аналогам. В указанной работе авторы отмечают существенное значение структуры сорбента и природы сорбционных центров. Вид изотермы сорбции указывает на адсорбцию на неоднородной поверхности с множеством функциональных групп и центров связывания аналитов. При этом степени извлечения флавоноидов синтезированными ПМО из водных растворов не превышали 70% [33].

В то же время, в последние годы существенно расширяется применение упорядоченных мезопористых кремнеземных материалов, как для твердофазной

экстракции широкого круга аналитов [34–37], так и сорбции полифенольных веществ, в частности [38–43]. Особое внимание стоит уделить кремнеземам с молекулярными отпечатками (КМО), применяемых для сорбции флавоноидов [44], в том числе извлечения кверцетина и других полифенолов [43, 45].

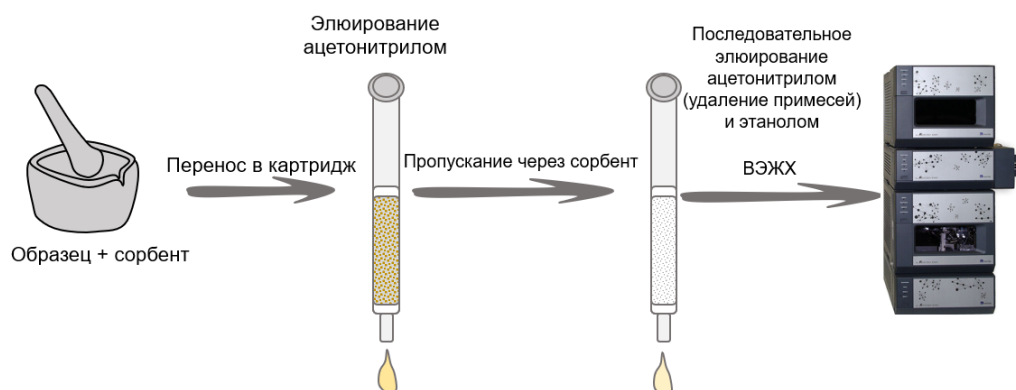
### **1.2.1 Варианты твердофазной экстракции в извлечении, концентрировании и очистке флавоноидов**

Как отмечено авторами работы [46], современные тенденции развития подходов к пробоподготовке направлены на сокращение затрат времени и реактивов с повышением селективности и эффективности определения аналитов. В настоящем разделе обсуждаются особенности вариантов твердофазной экстракции, которые предполагают объединение стадий извлечения флавоноидов и их очистки от мешающих определению примесей, с использованием различных сорбентов.

#### **1.2.1.1 Матричное твердофазное диспергирование**

В большинстве вариантов твердофазной экстракции предполагается предварительное извлечение определяемых веществ растворителями [34]. Эта стадия не требуется в методе матричного твердофазного диспергирования (МТФД), который состоит в непосредственном добавлении сорбента (или инертного диспергирующего материала) к жидкому или твердому анализируемому образцу [47] (рис. 1.3). Пробу смешивают и диспергируют с сорбентом, при этом происходит разрушение матрицы и распределение веществ на частицах твердофазного материала малого размера. Полученную смесь переносят в картридж, заполненный тем же самым или другим сорбентом. Проводят элюирование примесей, аналиты десорбируют подходящим растворителем для последующего определения [47]. По сравнению с другими вариантами ТФЭ, указанный подход позволяет существенно сократить продолжительность пробоподготовки, а также расход реагентов и уменьшить количество

анализируемого образца [48]. Прежде всего это достигается за счет возможности объединения стадий извлечения аналитов и их очистки.



**Рис. 1.3.** Схема анализа с пробоподготовкой в варианте матричного твердофазного диспергирования.

Аналогично классической ТФЭ, в качестве сорбентов в матричном твердофазном диспергировании при анализе флавоноидов преимущественно используются традиционные сорбенты [48]. В работе [49] проведено сравнение классического варианта ТФЭ и МТФД при анализе фенольных соединений в белом винограде. Показано, что современный вариант пробоподготовки значительно сокращает время анализа, но не позволяет достигать количественного извлечения аналитов при использовании в качестве сорбента силикагеля, модифицированного октадецильными группами. За последние 5 лет можно отметить расширение круга твердофазных материалов в МТФД флавоноидов. Селективность и эффективность выделения и очистки полифенолов достигается при использовании силикагелей с нанесенными ионными жидкостями, наночастиц оксида титана, наноструктурированных кремнеземов и др.

Авторами [50] отмечено, что МТФД может быть успешно применено для экстракции флавоноидов из цветка *S. morifolium*. В качестве диспергатора могут применяться силикагель, аморфный силикат магния (Florisil), а в качестве элюирующего растворителя – метанол. Авторы [50] показали, что настоящий метод имеет некоторые преимущества во времени и эффективности экстракции. Кроме того, отмечено снижение пределов обнаружения аналитов за счет повышения

степеней извлечения по сравнению с экстракцией в горячей водяной бане большого объема и ультразвуковой экстракцией.

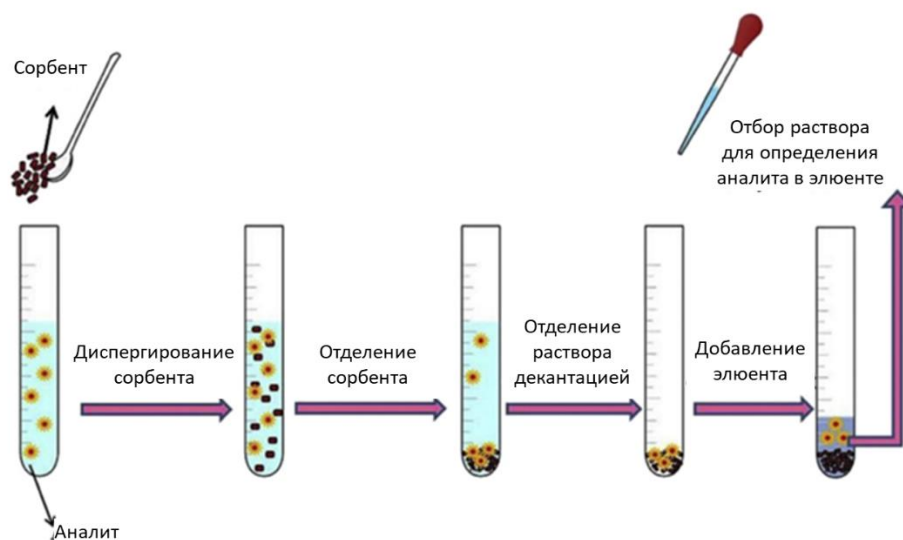
Как отмечено в работе [51], для достижения высокой точности определения с пробоподготовкой в варианте МТФД должно сохраняться линейное соотношение между обратной степенью извлечения аналита и отношением масс сорбента к массе пробы. Этому требованию соответствуют не все сорбенты вследствие неоднородности морфологии и доступности сорбционных центров. В работах [5, 6, 52] использовались упорядоченные мезопористые кремнеземы (аналоги SBA-15 и KIT-6) для МТФД флавоноидов. Упорядоченные мезопористые кремнеземы обладают высокоразвитой поверхностью, большим объемом и контролируемым размером пор [53, 54]. Это обуславливает их перспективность для использования при сорбционном выделении и концентрировании флавоноидов [55–57].

В работе [52] описан простой и экологичный метод МТФД для анализа флавоноидов в кожуре апельсиновых фруктов. Использование мезопористого кремнезема SBA-15 обеспечивает хорошую точность, удовлетворительное извлечение и низкие пределы обнаружения. Авторами отмечено улучшение метрологических характеристик определения флавоноидов по сравнению с традиционными вариантами пробоподготовки. При этом серия публикаций авторов [5, 6, 52] не позволяет однозначно выявить какие-либо закономерности о влиянии структуры и пористости кремнеземов на параметры сорбционного извлечения полифенолов.

### **1.2.1.2 Дисперсионная твердофазная экстракция**

Одним из требований в традиционной твердофазной экстракции для сохранения высокой эффективности концентрирования и расширения интервала рабочих концентраций аналита является равномерная упаковка сорбента в картридже и однородное распределение частиц по размерам [58]. Несоблюдение этих требований осложняет диффузию компонентов пробы. Дисперсионная твердофазная экстракция за счёт внесения сорбента непосредственно в

анализируемый раствор увеличивает площадь контакта с аналитами (рис. 1.4). По сравнению с другими вариантами ТФЭ, это способствует снижению необходимых количеств пробы, растворителей, массы сорбента и сокращению продолжительности анализа [58].



**Рис. 1.4.** Схема дисперсионной ТФЭ [59].

Как отмечено в работе [59], дисперсионная твердофазная экстракция (д-ТФЭ) привлекает особое внимание в процессе подготовки образцов благодаря своей простоте, скорости и эффективности. В рамках этого варианта пробоподготовки могут использоваться различные подходы, чтобы обеспечить тесный контакт между сорбентом и раствором образца, а также между сорбентом и растворителем на этапе элюирования. Диспергирование под действием ультразвука или с использованием вихревого смесителя (Vortex) обеспечивает интенсивное взаимодействие пробы с частицами сорбента, в результате высокие степени извлечения достигаются за короткое время (1-3 минуты). Это улучшает кинетику сорбции и элюирования следовательно, повышает эффективность всей процедуры экстракции[59]. Рассматриваемый метод может считаться универсальным благодаря значительному разнообразию сорбентов (твёрдофазовых материалов), отмеченных ранее, а также вследствие широкого круга механизмов сорбции, реализуемых с учетом физико-химических свойств аналитов.

В классической ТФЭ круг сорбентов ограничен требованием к их высокой механической стабильности в условиях высокого давления. Многие материалы с высокой селективностью и эффективностью могут создавать высокое противодействие, приводя к длительной пробоподготовке и затрудняя поддержание постоянной скорости потока, что отрицательно сказывается на воспроизводимости анализа в целом [60]. Вариант д-ТФЭ проводится за короткое время, поскольку не требуется стадия кондиционирования сорбента. В работе [61] показано, что пробоподготовка в варианте д-ТФЭ на модифицированных углеродных нанотрубках позволяет снизить предел обнаружения флавоноидов на 2-3 порядка по сравнению с традиционно применяемым вариантом ТФЭ.

Частным случаем д-ТФЭ является метод QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe – быстро, просто, дешево, эффективно, надежно и безопасно), в котором извлечение аналитов из матрицы проводится растворителями в присутствии солей (сульфат магния и хлорид натрия) [62]. Первая стадия пробоподготовки в варианте QuEChERS состоит в жидкость-жидкостной экстракции, при которой распределение веществ происходит между водной фазой с высоким содержанием солей и органическим слоем экстрагента. Второй этап заключается в очистке дисперсионной ТФЭ для удаления мешающих определению примесей.

В качестве растворителя обычно используют ацетонитрил, для которого разделение фаз при высаливании выражено сильнее по сравнению с другими растворителями (например, этилацетатом и ацетоном). Ещё одним преимуществом ацетонитрила является селективность, поскольку при его использовании экстракт содержит меньше примесей неполярных веществ. Добавление солей в смешивающийся с водой растворитель приводит к разделению фаз. Наиболее заметный эффект высаливания и максимальные степени извлечения полярных аналитов достигаются при использовании безводного сульфата магния. Добавки хлорида натрия позволяют контролировать селективность экстракции за счет варьирования полярности органической фазы. В качестве сорбентов требуется выбор эффективных материалов, позволяющих достигать наибольшей полноты

устранения интерферирующих компонентов без значительного удерживания целевых веществ.

Изначально метод QuEChERS предложен для анализа пестицидов во фруктах и овощах [63]. В последнее время круг определяемых соединений заметно расширяется, включая флавоноиды. Сорбент на этапе очистки д-ТФЭ выбирается таким образом, чтобы удерживать мешающие соединения из матрицы и позволять целевым анализам оставаться в жидкой фазе. В варианте QuEChERS наряду с традиционным силикагелем с привитыми C18 группами находит применение анионообменный сорбент первичный/вторичный амин (PSA). Эти сорбенты позволяют очищать пробы от липидов, углеводов и некоторых других соединений, но при их использовании могут наблюдаться потери полярных аналитов, в том числе многих флавоноидов.

В работе [64] описан и валидирован способ определения фенольных соединений (4-гидроксibenзойной, ванильной, кофейной, п-кумаровой, синапиновой, феруловой и эллаговой кислот, а также нарингенина) в красном сладком перце с пробоподготовкой в варианте QuEChERS. Использование ацетата натрия вместо цитратного буферного раствора позволяет более полно извлекать фенольные соединения из образцов. На стадии очистки д-ТФЭ комбинация малых количеств сорбентов (50 мг октадецилсилана (C18) и 7.5 мг графитизированного технического углерода) дает возможность более полного удаления примесных веществ, особенно каротиноидов, без значительного удерживания фенольных соединений. Предложенный метод пробоподготовки с УВЭЖХ-МС/МС определением позволяет достигать степени извлечения до 82-99 %, пределов определения – 2-150 мкг/кг [64].

В работе [10] оригинальный метод QuEChERS дополнен ультразвуковой экстракцией вместо ручного перемешивания для последующего определения полифенолов в фруктах и овощах ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием, а также оценки интегральной антиоксидантной активности и суммарного содержания антоцианов и беталаинов методом спектрофотометрии. Указанная

пробоподготовка позволила определить широкий круг флавоноидов (катехин, кверцетин, кемпферол), а также фенольных кислот (генцизиновая и феруловая).

Таким образом, на стадии пробоподготовки при определении полифенольных соединений могут быть использованы различные варианты ТФЭ. Однако, в связи с новизной вариантов пробоподготовки, требуется более детальное рассмотрение возможностей твердофазной микроэкстракции, дисперсионной ТФЭ, матричного твердофазного диспергирования и т.д., в том числе с использованием наноструктурированных сорбентов.

### 1.3. Методы определения полифенольных соединений

В настоящее время определение полифенольных соединений проводится различными физико-химическими методами: спектроскопическими [65] электрохимическими [66], хроматографическими. Выбор метода анализа проводится, прежде всего, с учетом цели анализа (определение отдельных флавоноидов или их суммарного содержания) и типа образца, т.е. возможного мешающего влияния примесей.

*Спектрофотометрия.* Метод спектрофотометрии обладает высокой чувствительностью, но низкой селективностью вследствие наложения полос поглощения самих флавоноидов и других веществ, присутствующих в пробе. Этот метод применяется преимущественно для оценки общего содержания полифенольных соединений в варианте прямого УФ-детектирования или после обработки пробы специфичными реагентами [67]. Основные хромофорные группы молекул флавоноидов – кольца А и В (рис. 1.1), сопряжённые или несопряженные между собой, в зависимости от степени окисленности кольца С (рис. 1.1, 1.2). В спектрах поглощения флавоноидов присутствуют, как правило, две полосы (I и II), соответствующие  $\pi$ - $\pi^*$  переходу, интенсивность и положение которых изменяется в широких пределах. Полоса I (300-400 нм) обусловлена поглощением циннамоильной системой, образованной кольцом В и фрагментом С. Полоса II (240-280 нм) соответствует поглощению кольцом А и фрагментом С [68].

Электронодонорные заместители в кольце В приводят к батохромному сдвигу в коротковолновой области, в кольце А – увеличивают интенсивность поглощения.

Определение флавоноидов в присутствии ионов  $Al(III)$  основано на образовании окрашенных комплексов желтого цвета с максимумом поглощения электромагнитного излучения в диапазоне длин волн 410-440 нм. Варьируя кислотность среды, можно определять суммарное содержание флавоноидов одной группы. Например, в слабокислой среде происходит батохромный сдвиг полосы поглощения кольцом В, что позволяет определять флавонолы. Общее содержание флавоноидов также определяют с использованием борогидрида натрия, в присутствии которого происходит восстановление карбонильных групп в молекулах флавоноидов с образованием окрашенных продуктов. Для определения общего содержания флаванонов и дигидрофлавонолов используют 2,4-динитрофенилгидразин [69].

*Хроматография.* Среди хроматографических методов определения флавоноидов наиболее часто применяется высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) в обращенно-фазовом варианте с УФ-видимым, диодно-матричным [70], масс-спектрометрическим детектированием. Этот метод характеризуется высокой чувствительностью и селективностью и позволяет анализировать многокомпонентные системы. В качестве подвижной фазы используют смеси воды с органическими растворителями (обычно ацетонитрил или метанол, реже этанол [70]) с добавками кислотных модификаторов (муравьиная, уксусная или ортофосфорная кислоты [70]).

В сильноосновной среде некоторые флавоноиды способны к флуоресценции, которая возникает у резонансной формы, диссоциированной по двум ступеням. В этих условиях флавоноиды могут подвергаться окислению, поэтому в работе [71] предложено проводить дериватизацию непосредственно перед детектором. В поток вводили раствор гидроксида натрия через дополнительный насос после прохождения аналитов через колонку.

Многокомпонентность анализируемых проб реальных объектов, содержащих вещества с близкими физико-химическими свойствами, осложняется

наложением хроматографических пиков [72]. В связи с этим важным является совершенствование способов пробоподготовки для достижения высокой точности определения аналитов.

#### 1.4 Упорядоченные мезопористые кремнеземы

Сорбционные процессы, реализуемые в статическом и динамическом режимах, нашли широкое применение при выделении, концентрировании и разделении близких по физико-химическим свойствам биологически активных веществ. Для решения задач, связанных с развитием подходов к пробоподготовке, особое внимание уделяется поиску эффективных сорбентов [60, 73]. Наноструктурированные сорбенты вызывают широкий интерес применения на стадиях пробоподготовки (извлечения, концентрирования) многокомпонентных смесей в процессах твердофазной экстракции органических веществ [74].

Упорядоченные мезопористые кремнеземы синтезируют золь-гель методом (рис. 1.5), в том числе с гидротермальной обработкой [75]. Получение упорядоченной матрицы кремнеземов основано на использовании поверхностно-активных веществ в качестве темплатов, которые формируют различные мезофазы в зависимости от температуры и состава раствора. При добавлении прекурсора происходит его гидролиз и конденсация на поверхности мицелл с образованием золя, который переходит в стабильный гель (обычно в процессе гидротермальной обработки). Заключительный этап синтеза мезопористых материалов состоит в высушивании и прокаливании полученного геля.

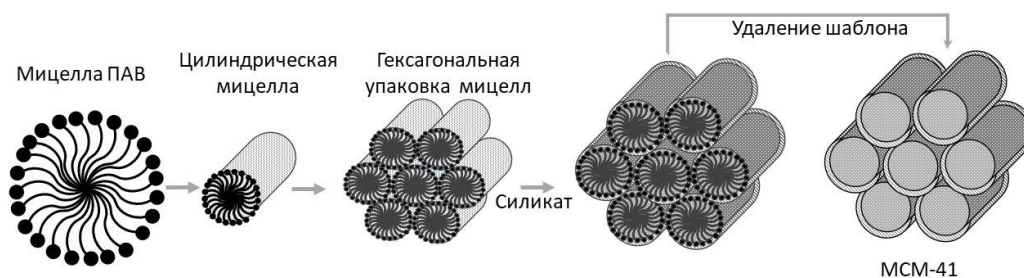


Рис. 1.5. Схема синтеза упорядоченных мезопористых кремнеземов на примере MCM-41.

Наноструктурированность, геометрия и размер пор, распределение сорбционных центров на внешней и внутренней поверхности кремнезёмов существенно меняются при варьировании условий синтеза (природы прекурсора и темплата, температуры, кислотности среды, состава растворителя, температуры и продолжительности гидротермальной обработки, варианта удаления темплата из мезопор). В качестве кремниевой основы используют тетраэтоксисилан (ТЭОС), оксид кремния в виде растворов его коллоидный частиц в щелочных средах, различные формы силиката натрия. В качестве альтернативных источников могут выступать песок [76], зола рисовой лузги [77]. Применение таких прекурсоров значительно повышает экологичность синтеза, а в ряде случаев позволяет организовать безотходные производства [78]. В качестве шаблона применяют поверхностно-активные вещества различной природы. Наиболее часто используют бромид цетилтриметиламмония [79] и блоксополимеры полиэтиленоксид-полипропиленоксид-полиэтиленоксид (Pluronic P123, Pluronic F127) [80]. Варьируя условия синтеза, удается контролировать структуру кремнезёмов (кубическая, гексагональная, слоистая), размер пор и частиц, площадь поверхности, плотность поверхностных силанольных групп и др. В качестве альтернативных шаблонов применяют ионные жидкости [81], жирные кислоты [82], фосфолипиды [83] и др. В ряде случаев синтез ведут на смешанных мицеллах [84].

Особый интерес наноструктурированные кремнезёмы вызвали после публикаций группы ученых компании Mobil Research and Development Corporation [79]. Варьируя условия, были получены кремнезёмы с гексагональной (MCM-41), кубической (MCM-48) и слоистой структурой (MCM-50). Размер пор составил 1.5–10 нм в зависимости от длины цепи структуронаправляющего компонента.

В середине 90-х гг. был предложен неионный путь синтеза [85]. На основе полиэтиленоксидных ПАВ получены мезопористые кремнезёмы MSU-1, MSU-2, MSU-3 [85]. В присутствии нейтральных диаминов с длиной углеводородной цепи от 8 до 12 атомов углерода синтезированы упорядоченные кремнезёмы MSU-V [86]. Идея использования в качестве шаблонов неионогенных блоксополимеров привела к появлению материалов серии SBA (Santa Barbara Amorphous) с

бимодальной системой из микро- и мезопор [80, 87] с размером мезопор 5-30 нм. Добавки бутанола в реакционную среду позволили получить упорядоченные мезопористые кремнеземы с кубической структурой KIT-6 [54, 88].

### **1.5 Селективность упорядоченных кремнеземов в процессах сорбционного концентрирования**

Упорядоченность мезопористых кремнеземов, высокоразвитая поверхность, узкое распределение пор по размерам обуславливают применение таких материалов в качестве носителей катализаторов, при создании лекарственных форм нового поколения с пролонгированным действием и контролируемым выделением действующего вещества, иммобилизации токсичных загрязняющих компонентов, экстракции биологически активных соединений. Особый интерес наноструктурированные кремнеземы вызывают в сорбции веществ, реализуемой как в статических, так и динамических условиях. В первую очередь на стадиях анализа многокомпонентных матриц в статических вариантах сорбционных процессов существенное значение имеют равновесные параметры, такие как коэффициент распределения, сорбционная емкость, сродство к аналиту, селективность и др. В динамических условиях при анализе сложных объектов наряду с равновесными параметрами существенное значение приобретают кинетические параметры, определяющие эффективность хроматографического разделения, эффективность сорбционного концентрирования, быстроту установления сорбционного равновесия. Кинетические параметры сорбции-десорбции аналитов и компонентов матрицы особенно важны при реализации экспрессного аналитического процесса, включении on-line пробоподготовки в схему анализа (включение блока пробоподготовки в установку аналитического оборудования).

Важным свойством сорбента при его выборе для выделения и концентрирования аналитов является селективность. Упорядоченность мезопористых кремнеземов позволяет варьировать их селективность по

отношению к разным группам аналитов за счет контроля структуры. В отличие от неоднородных традиционно используемых материалов, для рассматриваемых кремнезёмов характерно существенное влияние размера пор, типа структуры, площади поверхности и других свойств на адсорбционную селективность [89]. В ряде случаев это позволяет отказаться от необходимости модификации поверхности сорбентов функциональными группами [90, 91]. В настоящем разделе обсуждаются возможности варьирования сорбционной селективности упорядоченных мезопористых кремнезёмов путем изменения структурных и поверхностных характеристик в процессе синтеза.

*Размер мезопор.* Упорядоченные мезопористые кремнезёмы часто рассматривают как «молекулярные сита», т. е. разделение молекул на них происходит за счет различия в размерах мезопор ( $d_p$ ). Также  $d_p$  влияет на доступность внутренней поверхности для аналитов. Важной задачей для обеспечения высокой скорости сорбции и десорбции целевых веществ является варьирование размера мезопор при сохранении упорядоченной структуры [92]. Фактор размерности мезопор регулируется природой темплата, условиями синтеза кремнезёма, а также добавками, влияющими как на структурообразование шаблона, так и на формирование матрицы кремнезёма с участием прекурсоров [93]. В частности, для аналогов MCM-41 размер мезопор может варьироваться от 2 до 10 нм при использовании ионогенных алкиламинов  $R-N(CH_3)_3X$  с числом атомов углерода в алифатической части от 12 до 22 [54, 80] ( $R = C_{12}H_{25}, C_{14}H_{29}, C_{16}H_{33}$ , и т.д.;  $X$  – анион галогенида или гидроксида). Для синтеза аналогов SBA-15 с размером пор от 5 до 30 нм используют неионогенные ПАВ (например, блоксополимеры Pluronic P123, Pluronic F127 и др.) [80]. Изменение размера мезопор кремнезёмов может быть реализовано при использовании веществ, влияющих на размер мицелл шаблонов [94]. Добавка 1,3,5-триметилбензола в качестве соразтворителя позволила получить материал типа MCF (Mesoporous Cellular Foam) [95], представляющий собой равномерно расположенные сферические ячейки, образующие непрерывную трехмерную систему пор с размером более 10 нм. Крупные поры, однородные по размеру, обуславливают

перспективность разделения крупных молекул на материалах типа MCF. Следует отметить, что размер мезопор, а также ширина распределения пор по размеру особенно важны для кинетики сорбции ионов и молекул, в том числе при реализации сорбционной пробоподготовки и стадий анализа в динамических условиях. Следовательно, указанные параметры необходимо контролировать для повышения эффективности сорбционного концентрирования, сорбционно-хроматографического разделения аналитов с использованием указанных кремнеземов.

*Тип структуры.* Селективность материалов с учетом сорбционных свойств упорядоченных мезопористых кремнеземов может меняться в зависимости от типа структуры [89]. Варьирование типа симметрии матрицы (гексагональной, кубической, ламиллярной) при использовании одного и того же шаблона происходит при изменении его концентрации (например, аналоги MCM-41, MCM-48 и MCM-50) [54]. В случае неионогенных ПАВ переход от гексагональной к кубической структуре матрицы кремнезема достигается при использовании блоксополимеров с разной длиной цепи гидрофильных и гидрофобного блоков. Формирование гексагональной структуры типа SBA-15 происходит при синтезе на основе неионогенных блоксополимеров. При использовании в качестве шаблона ПАВ с более длинными блоками полиэтиленоксида Pluronic F127 образуются материалы типа SBA-16 с кубической симметрией [87]. Также присутствие в реакционной смеси алканолов (например, бутанола-1) при синтезе упорядоченных кремнеземов может приводить к переходу гексагональной структуры кремнезема в кубическую. Синтезированные таким образом сорбенты относят к аналогам кремнеземов типа KIT-6 [88]. На фазовой диаграмме Pluronic P123, предложенной Wanka с соавт. [96], присутствуют области существования кубической (20-40 мас. %) и гексагональной (выше 40 мас.%) фаз. Для снижения концентрационного диапазона существования упорядоченных мезофаз в раствор могут быть введены различные добавки (изменяющие сольватацию ПАВ, межмолекулярные взаимодействия, структурообразование): соли, спирты и др. [97]. Влияние спиртов на мицеллообразование блоксополимеров широко изучено в литературе.

Отмечается, [98], что высшие спирты, начиная с бутанола-1, сорбируются на поверхности мицелл, увеличивая их размер. Авторами [99], на примере другого блоксополимера Pluronic F127 (с близкими к Pluronic P123 свойствами) показано, что упорядоченная кубическая мезофаза формируется уже при 15 мас. % блоксополимера. Бутанол-1 снижает концентрацию существования кубических наноструктур до 9 мас. %, а температуру до комнатной. Предполагается, что бутанол-1 вытесняет воду из ядра мицелл, вызывая их переход от сфер к стержням [100]. Однако природа темплата, добавки алканолов, играющих роль как сорастворителей, так и молекул, участвующих в формировании гидрофильной "головы" мицеллы, требуют дополнительного изучения, в том числе с учетом особенностей формирования структуры и связанной с ней плотностью распределения сорбционных центров, их сольватации, а следовательно, способности влиять на селективность кремнезема.

*Количество и природа сорбционных центров.* Поверхность кремнеземов образована силоксановыми и силанольными группами [101]. Последние могут быть свободными, связанными водородными связями и гидратированными. Сорбционные свойства упорядоченных кремнеземов определяются преимущественно числом и доступностью свободных силанольных групп [102]. Эта характеристика может изменяться на разных этапах синтеза в процессах гидролиза и конденсации прекурсора, а также дальнейших перестроек структур силиката. Как показано авторами работы [101], интенсивность полосы на ИК-спектрах поглощения, характерной для поглощения свободными силанольными группами, пропорциональна концентрации соляной кислоты в реакционной смеси при синтезе аналогов SBA-15 (в диапазоне концентраций 0.1-2.0 моль/л). Авторы обращают внимание на снижение упорядоченности структуры кремнеземов при  $c(\text{HCl}) > 1.5$  моль/л [101].

Число сорбционных центров в значительной степени зависит от условий постсинтетического освобождения пор сорбента от темплата [102, 103]. Авторами работы [102] проведено удаление блоксополимеров Pluronic P123 и F127 кальцинированием, экстракцией подкисленным этанолом и обработкой перекисью

водорода. Отмечено, что при экстракции растворителем число свободных Si-OH групп соответствует их числу для материалов с шаблонами в порах, при кальцинировании силанольные группы частично превращаются в силоксановые, а обработка перекисью водорода приводит к частичной диссоциации силоксановых групп до силанольных.

Силанольные группы могут быть как свободные, так и участвующие в образовании водородных связей, в том числе между собой, а также с молекулами растворителей и других добавок. В свою очередь свободные группы могут находиться внутри микропор (ультрамикропор и субмикропор) и быть недоступными, в том числе для молекул растворителя, а могут находиться на поверхности мезопор (доступны для растворителя, но не всегда для аналитов, а также на внешней поверхности (всегда доступны и для молекул растворителя и для аналитов)). Кроме абсолютного числа силанольных групп важно учитывать их доступность для аналитов [91]. Сорбционные центры могут оставаться заблокированными вследствие неполного удаления темплата (особенно при экстракции растворителями), а также из-за нахождения на внутренней поверхности и недоступности для объемных молекул и ионов.

### **1.5.1 Модификация упорядоченных кремнезёмов органическими функциональными группами**

Модификация поверхности органическими и неорганическими реагентами является одним из направлений вариации сорбционной селективности кремнезёмов. Наиболее известным и традиционным подходом модификации силикагелей, получившим широкое распространение, является прививка групп октил-, додецил-, гексадецил- или октадецилсиланов, позволяющих получать обращенно-фазовые кремнезёмы C8, C12, C16 и C18. Широкое распространение, в том числе в ТФЭ, получили и кремнезёмы с привитыми функциональными (амино-, циано-, диольными и др.) группами. Аналогичные подходы прививки неполярных и функционализированных силанов применяются и для упорядоченных

кремнеземов (аналогов MCM-41, SBA-15 и др.) [104]. Модификация упорядоченных кремнеземов позволяет в широких пределах варьировать их сорбционные свойства по отношению к разным группам аналитов. Модификация органическими функциональными группами проводится путем соконденсации [105] или постсинтетической обработки [106].

Важно учитывать изменение механизма сорбции целевых веществ при модификации кремнеземов. Модификация наноструктурированного оксида кремния группами C18 способствует реализации распределительного механизма удерживания аналитов. При этом достигаются улучшения кинетических параметров сорбции по сравнению с немодифицированными кремнеземами [41]. Однако модификация часто не позволяет элюировать аналиты малыми объемами растворителя, как в случае исходных сорбентов. Например, авторами работы [107] кремнеземы типа MCM-41 и SBA-15 модифицированы аминогруппами. Это способствует значительному повышению сорбционной емкости кремнеземов по отношению к аналитам, но требует больших объемов растворителей для элюирования аналитов и не позволяет повторно использовать сорбенты.

### **1.5.2 Модификация упорядоченных мезопористых кремнеземов ионами металлов**

В настоящее время активно развивается направление модификации упорядоченных кремнеземов ионами металлов для расширения возможностей использования кремнеземов [108–111]. В литературе практически отсутствуют работы по сорбционному извлечению и концентрированию веществ упорядоченными кремнеземами, модифицированными гетероатомами. Такие материалы широко используются как катализаторы [108] и в системах доставки лекарств [109].

Добавление солей на стадии формирования золя может влиять на структурообразование шаблона, снижая упорядоченность кремнеземов [110]. Поэтому обычно проводят постсинтетическую модификацию [110, 111]. Подбор

растворителей позволяет модифицировать кремнеземы без предварительного удаления ПАВ из пор с последующим отжигом, при котором одновременно происходит удаление шаблона и восстановление ионов металлов [110]. Наиболее простым вариантом для постсинтетической модификации является метод пропитки, при котором сорбент диспергируют в растворе соли [111].

Для воспроизводимого извлечения веществ необходимо, чтобы сорбент имел не только однородную структуру, но и характеризовался равномерным распределением сорбционных центров. Авторами работы [109] проведена модификация МСМ-41 гетероатомами путем ионного обмена катионов цетилтриметиламмония, электростатически связанными с отрицательно заряженными стенками кремнезема, на ионы металлов. Такой подход позволяет достигать равномерного распределения сорбционных центров на поверхности сорбента. Актуальным остается развитие подходов к модификации кремнеземов, синтезированных в присутствии неионогенных ПАВ. Как отмечено авторами работы [108], пропитка ионами металлов под действием ультразвука частично решает эту задачу.

### **1.5.3 Упорядоченные мезопористые кремнеземы с молекулярными отпечатками аналитов**

Одним из направлений развития синтеза упорядоченных кремнеземов является получение мезопористых материалов с молекулярными отпечатками потенциальных аналитов [112, 113]. Это позволяет дополнить все преимущества упорядоченных кремнеземов по сравнению с классическими материалами высокой селективностью по отношению к определенной группе веществ [114]. Как отмечено авторами работы [115], одним из основных достоинств кремнеземов по сравнению с молекулярно-импринтированными полимерами является заметное улучшение диффузии в порах твердофазного материала.

Существует несколько подходов к синтезу мезопористых кремнеземов с молекулярными отпечатками потенциальных аналитов. Первый основан на

классическом синтезе, но реакционная среда также включает ковалентно-связывающий компонент (обычно аминопропилтриметоксисилан) и потенциальный аналит [115] или его менее токсичный и дорогостоящий аналог [116]. Менее распространенным вариантом получения КМО является постсинтетическая обработка [117]. В некоторых случаях удается варьировать сорбционные свойства упорядоченных кремнеземов только за счет введения потенциальных сорбатов на стадии синтеза [118, 119]. Авторами работы [119] осуществлен синтез упорядоченных кремнеземов типа MCM-41 в присутствии азосоединений. Отмечено, что в присутствии азокрасителей формируется более однородная гексагональная структура с узким распределением пор по размерам. Молекулы аналитов могут располагаться в гидрофобном центре, между хвостами ПАВ или в сольватной оболочке мицелл [118]. Азокрасители самопроизвольно переходят из водной среды в мицеллярную за счет электростатических и гидрофобных взаимодействий.

Использование предложенного подхода к синтезу на основе неионогенных ПАВ может осложняться солюбилизацией потенциальных аналитов мицеллами шаблона [120]. В работе [113] показано, что добавки кверцетина и (+)-катехина в реакционную среду при синтезе аналогов SBA-15 позволяют варьировать упорядоченность и количество сорбционных центров на поверхности мезопор. Однако это не приводит к заметным изменениям в сорбционных свойствах по отношению к флавоноидам. Это связано прежде всего с встраиванием флавоноидов в ядро мицелл неионного ПАВ при синтезе. При этом солюбилизированное вещество может локализоваться в различных частях мицеллы в зависимости от преобладающего типа взаимодействий (гидрофобное, электростатическое, водородные связи). Вероятно, малополярные полифенольные вещества в случае неионогенных мицелл будут находиться внутри них, а в случае ионных – как внутри, так и вблизи мицелл за счет большого вклада электростатических взаимодействий. В этом случае кроме эффекта молекулярных отпечатков в большей степени можно ожидать изменение структуры матрицы кремнезема в присутствии добавок при синтезе с использованием соответствующих темплатов.

Рассмотрение особенностей участия флавоноидов в структурообразовании ПАВ, использующихся как темплаты при синтезе, позволит варьировать сорбционную эффективность и селективность упорядоченных мезопористых кремнеземов.

## **1.6 Варианты твердофазной экстракции с использованием упорядоченных мезопористых кремнеземов**

Развитие методов пробоподготовки обусловлено расширением круга используемых твердофазных материалов. В зависимости от варианта ТФЭ селективность сорбентов к анализам с разной полярностью и размером молекул преимущественно определяется структурными или поверхностными характеристиками [121]. Свойства упорядоченных мезопористых кремнеземов могут варьироваться в широких пределах на стадии синтеза, а также в результате модификации. Это позволяет находить наиболее эффективный материал для решения конкретных задач на стадии пробоподготовки. В настоящем разделе обсуждаются особенности вариантов ТФЭ с учетом свойств кремнеземов, которые обуславливают их преимущества по сравнению с классическими сорбентами.

### **1.6.1 Классическая твердофазная экстракция**

Ряд особенностей наноструктурированных кремнеземов отличает их от традиционно используемых сорбентов, в частности аналоги MCM-41 и SBA-15, в процессах ТФЭ. В работе [90] авторы обращают внимание на большую площадь поверхности до  $1000 \text{ м}^2/\text{г}$  и объем пор более  $0.7\text{--}1.0 \text{ см}^3/\text{г}$ . Помимо величины удельной площади поверхности, необходимо учитывать полярность поверхности и природу сорбционных центров [122]. В работе [122] показано, что в зависимости от условий синтеза и модификации кремнеземов соотношение силанольных и силоксановых групп позволяет регулировать сорбционные свойства твердофазных материалов по отношению к полярным и неполярным сорбатам. При использовании кремнеземов типа SBA-15 и SM (кремнезем со сферическими

гранулами) извлечение одного из гормонов  $17\beta$ -эстрадиола составляет 16 и 84% соответственно. Заметное различие в сорбционных свойствах в данном случае связано с природой сорбционных центров (силанольных и силоксановых групп). Методом  $^{29}\text{Si}$  ЯМР авторами работы [122] показано, что на поверхности SBA-15 преобладают изолированные силанольные группы (сигнал  $Q^3$ ), в то время как наиболее интенсивный сигнал при анализе SM соответствует поверхностным силоксановым группам ( $Q^4$ ).

Наноструктурированные кремнеземы находят применение в качестве сорбентов для ТФЭ в процедурах пробоподготовки и последующего хроматографического определения веществ в экстрактах пищевых и фармацевтических продуктов. В работах [123, 124] отмечено, что при твердофазной экстракции на мезопористых кремнеземах SBA-15 достигается более полное извлечение аналитов по сравнению с силикагелями с привитыми группами октадецилсилана C18, цеолитами и мезопористым углеродом. Стоит указать, что при сопоставимой с некоторыми другими твердофазными материалами сорбционной емкости SBA-15 обладает значительным преимуществом, связанным с возможностью многократного использования [124].

Немаловажен расход сорбентов, применяемых при сорбционном извлечении и концентрировании целевых веществ [126]. Наиболее распространено применение картриджей для ТФЭ с массой сорбента около 500 мг. Высокие коэффициенты распределения аналитов при сорбции на упорядоченных кремнеземах (MCM-41, SBA-15, UVM-7 и др.) благодаря большой удельной площади поверхности, особенностям распределения сорбционных центров и их сольватации позволяют использовать малые массы сорбента (10–100 мг) при ТФЭ аналитов. В работах [90, 125] изучены сорбционные свойства кремнеземов MCM-41 и UVM-7 при выделении фосфадитилхолина. Кремнезем UVM-7 с упорядоченной бимодальной пористостью характеризуется максимальной сорбционной емкостью к фосфолипиду. Более высокую емкость UVM-7 авторы связывают с высокой плотностью свободных силанольных групп и величиной удельной площади поверхности ( $S_{\text{уд}} = 1275 \text{ м}^2/\text{г}$ ), почти в два раза превышающей аналог MCM-41 ( $S_{\text{уд}}$

= 660 м<sup>2</sup>/г). Отмеченные особенности кремнезема [90] обосновывают перспективность выбора UVM-7 для твердофазной экстракции фосфолипидов из многокомпонентных матриц (в том числе при анализе человеческого молока на содержание фосфолипидов). Применение упорядоченных кремнеземов позволяет определять фосфадитилхолин при концентрациях 150–600 мкг/мл с пределом обнаружения 3.5 мкг/мл. Важным достоинством картриджей, заполненных наноструктурированными аналогами UVM-7, является сохранение удовлетворительной воспроизводимости результатов определения фосфолипидов после 15 циклов использования сорбента (степень извлечения оставалась в интервале 94 ± 4%).

Как отмечено выше, селективность сорбентов может быть повышена путем формирования молекулярных отпечатков в структуре. Авторами работы [126] получен сорбент МСМ-41 с молекулярными отпечатками нонилфенола для его твердофазной экстракции из текстильных образцов. Использование при синтезе кремнезема потенциального аналита (в качестве молекулярного отпечатка) позволяет достигать степени извлечения сорбата до 92–95% и относительно высокой величины коэффициента селективности ( $\alpha = 2-3$ ).

Авторами работы [126] при определении нонилфенола методом ВЭЖХ с УФ-детектированием отмечена линейность отклика, которая находится в интервале концентраций 0.25–20 мкг/мл. Более высокий аналитический сигнал при условии бóльшей эффективности сорбционного концентрирования приводит к увеличению коэффициента чувствительности и снижению предела обнаружения аналита до 0.12 мкг/мл.

### **1.6.2 Современные варианты твердофазной экстракции с использованием упорядоченных мезопористых кремнеземов**

*Твердофазная микроэкстракция.* Важной особенностью упорядоченных кремнеземов для использования в современных вариантах твердофазной экстракции является возможность миниатюризации картриджей ТФЭ за счет

существенно более развитой поверхности (пропорциональное увеличение сорбционной емкости) и снижения вклада кинетических ограничений сорбции аналита (увеличение эффективности сорбционного концентрирования в динамических условиях). Под твердофазной микроэкстракцией (ТФМЭ) понимается либо ряд методов, в которых используется небольшое количество сорбента (обычно 10–50 мг) [127–129], либо нанесение сорбента на поверхность волокна или иглы микрошприца [91, 91, 130–137]. Малое количество сорбента позволяет расширить возможности традиционных картриджей для твердофазной экстракции. На стадиях пробоподготовки могут реализовываться различные варианты упаковки сорбента [127].

Особенностью ТФМЭ с перемешиванием (stir-bar) является применение мешалки с сорбентом внутри мембраны, что повышает площадь поверхности сорбента, контактирующую с пробой [138]. Использование варианта ТФЭ с перемешиванием позволяет расширить диапазон линейности градуировочных зависимостей для определения веществ (например, фенольных соединений) на порядок по сравнению с традиционными способами пробоподготовки. В работе [138] реализовано определение содержания нитрозаминов в косметических средствах методом ТФМЭ с перемешиванием на SBA-15, допированным церием, с последующим ГХ-МС-определением. При оптимизации количества допанта, массы сорбента, типа и объема элюента степень извлечения может повысилась до 80–100% [138], диапазон линейности расширен до 10–1000 нг/мл, а пределы обнаружения при пробоподготовке с твердофазной микроэкстракцией снижены до нескольких нг/мл (2.7–3.4 нг/мл по данным [138]). Использование наноструктурированного кремнезема позволило достичь высокой полноты извлечения в более широком диапазоне концентраций по сравнению с углеродными нанотрубками и карбоксен/полидиметилсилоксановым (CAR/PDMS) волокном.

Использование кремнеземов в водных растворах ограничено конкурентной сорбцией молекул воды [104]. В то же время упорядоченные кремнеземы могут применяться в вариантах ТФЭ как в неполярных средах, так и в водных растворах

вследствие особенностей формирования матрицы и распределения сорбционных центров на поверхности и, как результат, более высокой гидрофобности. Авторы работ [38, 139] продемонстрировали возможность определения фенольных соединений в воде при их твердофазной микроэкстракции с перемешиванием на сорбенте SBA-15 с различными привитыми органическими группами. Коэффициенты концентрирования фенольных соединений на упорядоченных кремнеземах составили 20–30.

В ряде работ под ТФМЭ понимают вариант пробоподготовки, основанный на зависимости сорбции веществ от температуры [91, 132, 133, 140, 141]. Метод состоит в адсорбции аналитов на поверхности сорбента с последующей десорбцией при более высоких температурах. Одно из основных преимуществ такого варианта ТФМЭ – отсутствие необходимости количественного извлечения целевых компонентов из пробы. Достаточно выполнение линейного соотношения между количеством сорбируемого аналита и его концентрацией в анализируемом образце. Авторы работы [141] отметили, что к достоинствам метода относятся цилиндрическая геометрия волокон, обеспечивающая легкий доступ аналитов к поверхности упорядоченного кремнезема, а также отсутствие необходимости в полной десорбции сорбатов.

Выше отмечено, что не всегда корректно проводить выбор сорбента на основании только степени извлечения определяемых веществ. Авторами работы [91] рассмотрена твердофазная микроэкстракция алифатических аминов из воздуха и грибов при варьировании структуры и размера пор упорядоченных кремнезёмов. Площадь поверхности, по мнению авторов, не всегда является фактором, определяющим сорбционные свойства твердофазного материала. При использовании кремнезёмов МСМ-41 с удельной площадью поверхности  $1180 \text{ м}^2/\text{г}$  степень извлечения аминов достигает только 60%. В то же время для аналогов КИТ-6 и SBA-15 ( $S_{\text{уд}} = 970 \text{ м}^2/\text{г}$  и  $S_{\text{уд}} = 760 \text{ м}^2/\text{г}$  соответственно) степень извлечения аналитов близка к 100%. Различие в полноте извлечения аналитов авторы работы [91] связывают прежде всего с размером пор, который для КИТ-6 и SBA-15 составляет около 8 нм, в то время как в случае МСМ-41 – 4 нм. Для достижения

высоких значений степени экстракции аналита важной является доступность для него внутренней поверхности сорбента. Однако, как отмечено выше, количественное извлечение определяемых веществ в твердофазной микроэкстракции не является необходимым условием. Более важным свойством сорбентов, особенно при необходимости определения веществ в многокомпонентных матрицах, является *селективность* сорбента. В работе [91] показано, что при анализе реальных объектов твердофазные материалы с относительно широкими мезопорами (KIT-6 и SBA-15) при высокой сорбционной емкости (значительном объеме и диаметре мезопор) обладали низкой селективностью к извлекаемым веществам. Напротив, MCM-41, с учетом условий реализации ТФМЭ и модификации сорбента, позволяет экстрагировать из сложных смесей преимущественно целевые вещества. В этом случае проявляется ситовый эффект упорядоченных сорбентов при варьировании размера мезопор.

Аналогично особенностям использования сорбентов в классических вариантах ТФЭ, в ТФМЭ получили распространение модифицированные упорядоченные кремнеземы. В качестве сорбента в твердофазной микроэкстракции при определении полициклических ароматических углеводородов успешно применяется SBA-15-C8 [132, 133]. В работе [132] показано, что на волокне SBA-15 с привитыми октильными группами C8 извлекается в 2–5 раз больше аналита по сравнению с коммерческим полидиметилсилоксаном.

Твердофазная микроэкстракция часто используется на стадии пробоподготовки с последующим газохроматографическим определением веществ. В работе [134] ароматические углеводороды с предварительным извлечением на SBA-15-C8 определяли методом ВЭЖХ с УФ-детектированием. Показано, что после стадии пробоподготовки (в варианте твердофазной микроэкстракции) иглу с извлеченным аналитом для его десорбции помещают в статическую камеру с последующим определением аналита методом ВЭЖХ. В этом случае перед вводом пробы для извлечения аналита из сорбента достаточно 5 мин в условиях контакта с подвижной фазой в инжекторе. Сокращение времени

десорбции обусловлено достоинствами упорядоченной наноструктуры сорбента, а именно, доступностью для аналитов пространства мезопор.

Расширением возможностей ТФМЭ является вариант онлайн пробоподготовки с соединением трубки, заполненной сорбентом, и с включением в систему газового [135, 142] или жидкостного [136, 137, 143] хроматографа (in-tube solid phase extraction). В таком варианте пробоподготовки важна возможность многократного использования. В работе [136] показано, что после более чем 120 анализов трубка сохраняет сорбционные свойства с удовлетворительными метрологическими характеристиками определения аналитов.

*Матричное твердофазное диспергирование (МТФД).* Основы варианта пробоподготовки с матричным твердофазным диспергированием описаны в разделе 1.2.1.1. Последние десять лет наноструктурированные кремнеземы находят широкое распространение в вариантах пробоподготовки с МТФД [5, 52, 128, 144]. Стоит указать, что развитая наноструктура кремнеземов (аналогов MCM-41 и SBA-15) со значительной площадью поверхности, узким распределением мезопор по размеру определяет достоинства указанных сорбентов и перспективность их применения на стадиях пробоподготовки при анализе реальных объектов пищевых, фармацевтических, химических производств и продуктов сельского хозяйства.

В рассматриваемом варианте пробоподготовки определяющим фактором повышения полноты извлечения аналита является доступная внешняя и внутренняя поверхность сорбента. Сорбционные свойства упорядоченных кремнеземов с мезопорами размером 3–4 нм (MCM-41, MCM-48), как отмечено выше, определяются прежде всего внешней поверхностью и слабо зависят от типа структуры [145]. Увеличение размера пор до 5–10 нм (SBA-15 и KIT-6) при переходе от гексагональной к кубической симметрии приводит к заметным различиям сорбционных свойств упорядоченных кремнеземов [6]. В рассматриваемом варианте ТФЭ предполагается адсорбция веществ преимущественно на внешней поверхности MCM-41 и MCM-48. Для SBA-15 и аналогов с мезопорами большего размера удерживание аналитов в значительной

степени происходит на сорбционных центрах внутри мезопор, что сказывается на кинетике сорбции [52].

Важно учитывать также механизм удерживания веществ (адсорбционный, распределительный, ионообменный, эксклюзионный и др.). Каждый из них может быть реализован при сорбции веществ с учетом природы (полярности) сорбатов, его растворимости в контактирующих фазах, состава растворителя. Извлечение веществ классическими сорбентами, такими как Florisil PR, alumina-B, AZO и C18, осложняется невысокой степенью десорбции аналитов с поверхности традиционно используемых оксидов алюминия и силикагеля с привитыми октадецильными группами [128]. Авторами работы [128] показано, что в случае SBA-15 достигается количественная десорбция аналитов (степень извлечения составила 96.8–104%) за счёт слабого связывания веществ с наноструктурированным диспергирующим материалом.

*Дисперсионная твердофазная экстракция (д-ТФЭ).* Особенности д-ТФЭ как варианта пробоподготовки приведены в разделе 1.2.2.2. Дисперсионная твердофазная экстракция с использованием упорядоченных кремнезёмов успешно применена для определения полициклических ароматических углеводородов в подземных водах [146], фенольных соединений в плодах земляничного дерева [147], полифенолов в соках и смузи [58], гиппуровой и метилгиппуровой кислот в моче человека [129] и др. В работе [148] определяли кетоназол и вориконазол в биологических жидкостях при пробоподготовке методом д-ТФЭ на MCM-41 с последующим ВЭЖХ-МС/МС-определением. Использование на стадии пробоподготовки наноструктурированного кремнезёма при относительно малых массе сорбента ( $m = 20$  мг) и объеме растворителя ( $V = 200$  мкл) позволило расширить диапазон линейности аналитического сигнала при концентрациях определяемых веществ в интервале 0.1–10 мкг/л.

В варианте дисперсионной ТФЭ для повышения селективности и сорбционной емкости наряду с нормально-фазовыми кремнеземами используют сорбенты с привитыми функциональными группами. В работе [146] SBA-15, модифицированный аминопропильными, фенильными, октильными и

октадецильными группами, применяется в дисперсионной микротвердофазной экстракции полициклических ароматических углеводородов из подземных вод из мониторинговых скважин автозаправочных станций. Использование наноструктурированных сорбентов SBA-15-C8 с последующим ГХ-МС-определением позволяет достичь минимально определяемых концентраций аналитов от 0.15 до 3.0 мкг/л.

Выше отмечено, что в процессах ТФЭ существенное значение могут иметь как размер мезопор, величина удельной площади поверхности, так и структура сорбента. В дисперсионной ТФЭ находит применение наноструктурированный материал КИТ-6 (с кубической структурой), синтезированный на основе неионогенного темплата Pluronic P123. Сорбент КИТ-6, функционализированный аминогруппами, применен [129] для экстракции гиппуровой и метилгиппуровой кислот из мочи человека. Дополнительное сокращение времени экстракции достигнуто авторами при ультразвуковой обработке за счёт ускорения массопереноса и диффузии аналитов порах сорбента. Относительное извлечение аналитов при этом составило 99.6–104.0 % [129]. Открытые каналы мезопористых кремнеземов КИТ-6 значительно снижают сопротивление массопереносу сорбатов. Авторы работы [129] отмечают более высокую скорость диффузии в порах КИТ-6 по сравнению с другими упорядоченными кремнеземами (SBA-15 и MCM-41).

Существенное влияние на сорбционные свойства кремнеземов при их использовании в вариантах д-ТФЭ оказывают особенности матрицы (толщины стенок, распределение и природа сорбционных центров). Авторами работы [58] синтезирован мезопористый кремнезем с червеобразными порами (HMS), модифицированный октадецилсиланом (C18). Кремнеземы типа HMS обладают более толстыми стенками по сравнению с SBA-15 и, соответственно, являются более стабильными к воздействию агрессивных сред. В работе [58] показана применимость сорбентов HMS в вариантах д-ТФЭ при извлечении широкого круга полифенолов (более 20 соединений различной природы и структуры) из фруктово-овощных соков и смузи. Применение наноструктурированных кремнеземов с большой удельной площадью поверхности мезопор на стадии пробоподготовки в

методе УВЭЖХ-МС позволила авторам осуществить экспресс-определение веществ (менее чем за 10 мин). Мезопористая структура HMS обеспечивает более высокую полноту извлечения  $R$  аналита (до 99%) по сравнению с коммерчески доступным аморфным силикагелем C18 (для большинства аналитов  $R < 50\%$ ).

Авторами работы [149] показано, что при классическом варианте твердофазной экстракции аналитов из тимьяна упорядоченными мезопористыми кремнеземами с привитыми сульфогруппами более высокая степень извлечения достигается на однородных по размеру частицах SBA-15 по сравнению с HMS (гексагональный мезопористый кремнезем с “червеобразными” порами). Частицы последнего близки к сферической форме, но заметно различаются по размерам гранул, так как в условиях синтеза HMS не всегда удается синтезировать материалы с узким распределением частиц по размеру. При д-ТФЭ, напротив, рост полноты извлечения наблюдается при переходе от SBA-15 ( $S_{уд} = 560 \text{ м}^2/\text{г}$ ) к упорядоченному кремнезему HMS с большей величиной удельной площади поверхности ( $S_{уд} = 710 \text{ м}^2/\text{г}$ ).

Одним из перспективных направлений расширения возможностей вариантов дисперсионной ТФЭ является модификация упорядоченных кремнезёмов ионными жидкостями. В работе Си с соавт. [150] продемонстрировано использование в д-ТФЭ упорядоченного мезопористого кремнезема, функционализированного имидазолиевой ионной жидкостью при определении индолпроизводных алифатических кислот в женьшене. Указанная модификация упорядоченного материала способствует более полному извлечению азотсодержащих гетероциклических аналитов по сравнению с исходным кремнеземом и коммерческими сорбентами, включающими силикагель, C18, SCX, MCX,  $\text{NH}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  [150]. Обращают на себя внимание диапазон линейности (0.05–22.5 нг/г) и пределы обнаружения (3–8 нг/кг) с сохранением метрологических характеристик определения целевых веществ после пяти циклов сорбции–десорбции.

Для повышения селективности (специфичности) сорбентов в вариантах ТФЭ часто прибегают к иммобилизации модификаторов (например, циклодекстринов). В работе [147] описано применение гибридных мезопористых кремнезёмов с

крупными порами, функционализированных  $\beta$ -циклодекстрином, для дисперсионной твердофазной экстракции полифенолов из плодов земляничного дерева. Авторы указывают на преимущества варианта д-ТФЭ по сравнению с классической ТФЭ, в том числе благодаря использованию  $\beta$ -циклодекстринфункционализированного мезопористого кремнезема. Пробоподготовка с указанным сорбентом позволяет существенно повысить степень извлечения определяемых соединений (до 73–102%) из сложных матриц [147].

Как отмечено выше, частным случаем дисперсионной ТФЭ является метод QuEChERS, в котором после жидкостной экстракции и д-ТФЭ для детектирования используется газовая или жидкостная хромато-масс-спектрометрия [151, 152]. За счёт высокой чувствительности детектирования в ряде случаев не требуется испарение растворителя для дополнительного концентрирования пробы. В работе [152] рассмотрены особенности модификации SBA-15 и применения в д-ТФЭ при определении полихлорированных дифенилов и полиароматических углеводов в клубнике. Кремнеземы с привитыми группами N-[3-(триметоксисил)пропил]анилина (SBA-15-AN) позволяют улучшить соотношение сигнал/шум на 20% по сравнению с коммерчески доступным сорбентом PSA (первичный/вторичный амин), наиболее часто применяемым в методе QuEChERS [152].

### **Заключение к Литературному обзору**

Полифенольные соединения являются ценными компонентами растительного сырья, поскольку обладают высокой биологической активностью (прежде всего, антиоксидантными свойствами). Определение флавоноидов включает предварительную подготовку проб для извлечения аналитов из матрицы и устранения мешающего влияния примесей перед последующим определением физико-химическими методами анализа. В некоторых случаях необходимо также проведение концентрирования. Учет особенностей образца и свойств аналитов

позволяет выбирать наиболее подходящий вариант пробоподготовки и достигать высокой точности, чувствительности и воспроизводимости анализа. Отмечено, что мезопористые аналоги MCM-41 и SBA-15 могут по сравнению с традиционными кремнеземами (например, С18), полимерными сорбентами демонстрировать преимущества малых образцов и количеств сорбента, низкий расход растворителя для элюирования и высокую эффективность экстракции.

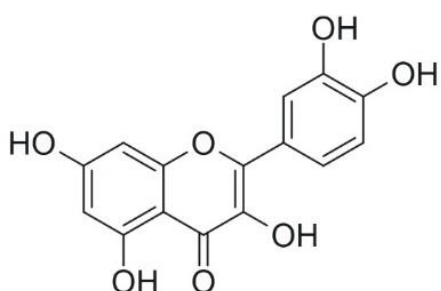
Как в классическом, так и современных вариантах ТФЭ, большую роль играют наноструктура сорбента, его удельная площадь поверхности и распределение сорбционных центров по поверхности (в том числе внутри мезопор). Если структура твердофазного материала (ее тип и степень упорядоченности) определяет кинетические особенности сорбции аналита (способствует изменению эффективности сорбционного концентрирования в динамических условиях), то удельная поверхность кремнезема влияет на сорбционную емкость, возможность варьировать рабочий диапазон концентраций аналита. В связи с тем, что подход использования наноструктурированных материалов в вариантах ТФЭ является новым, в литературе практически не рассматривается их применение при выделении, концентрировании, и определении полифенольных веществ. Имеются лишь немногочисленные работы по использованию мезопористых кремнеземов в процессах сорбционного и хроматографического разделения флавоноидов.

## Глава 2. Экспериментальная часть

### 2.1 Объекты исследования

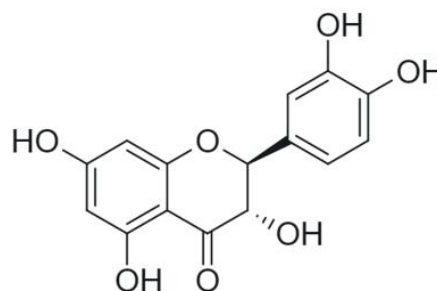
#### 2.1.1 Флавоноиды

В качестве объектов исследования использовались полифенольные вещества, принадлежащие к разным подгруппам флавоноидов: кверцетин (ООО «Катроса», Россия), дигидрокверцетин (ООО «Таксифолия», Россия), рутин («Acros Organics», Бельгия) и нарингин («Sigma-Aldrich», Германия) квалификации «чистые для анализа» (рис. 2.1.). Некоторые физико-химические свойства рассматриваемых флавоноидов приведены в таблице 2.1. Кверцетин является наиболее распространенным флавоноидом, относится к группе флавонолов, агликон. Рутин – гликозид кверцетина.



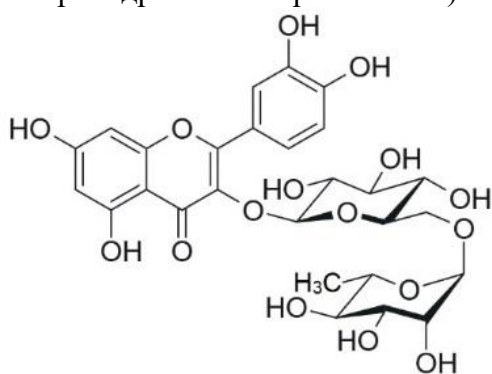
**Кверцетин**

(2-(3,4-дигидроксифенил)-3,5,7-тригидрокси-4H-хроман-4-он)



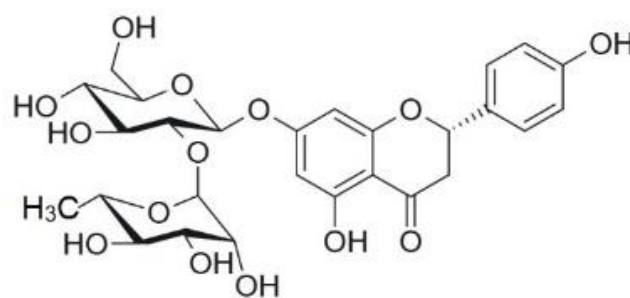
**Дигидрокверцетин**

(2S,3S)-2-(3,4-дигидроксифенил)-3,5,7-тригидрокси-2,3-дигидрохроман-4-он



**Рутин**

(2-(3,4-дигидроксифенил)-5,7-дигидрокси-3-[α-L-рамнопиранозил-(1→6)-β-D-глюкопиранозилокси]-4H-хроман-4-он)



**Нарингин**

(7-[[2-O-(6-деокси-α-L-маннопираносил)-β-D-глюкопиранозил]-окси]-2,3-дигидро-5-гидрокси-2-(4-гидроксифенил)-4H-1-бензопиран-4-он))

**Рис. 2.1.** Структурные формулы флавоноидов.

Некоторые физико-химические характеристики флавоноидов

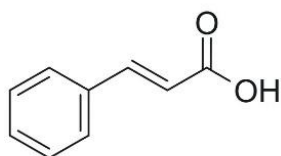
Название	Молярная масса, г/моль	logP	$pK_a$	Объем Ван-дер-Ваальса, Å <sup>3</sup>	Минимальный и максимальный проекционные радиусы, Å
Кверцетин	302.24	2.16	6.38 7.85 8.63	230.7	4.2 7.5
Дигидрокверцетин	304.25	1.82	7.74 9.00 9.61	246.1	4.8 7.0
Рутин	610.50	-0.87	6.37 7.96 8.56	500.5	6.0 9.0
Нарингин	580.53	-0.16	8.58 9.47 12.10	490.6	6.5 10.4

\*Расчитаны с использованием программного обеспечения Marvin Sketch (ChemAxon).

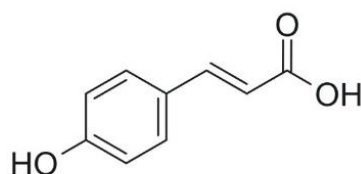
Выбор флавоноидов в качестве объектов исследования обусловлен их высокой биологической активностью и распространенностью в природных объектах. Важной задачей является совершенствование методов пробоподготовки для улучшения метрологических характеристик определения полифенольных соединений в сложных матрицах.

### 2.1.2 Коричные кислоты

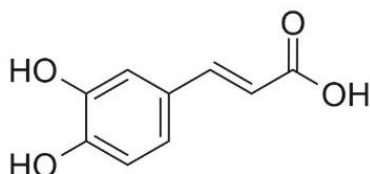
При извлечении целевых компонентов из растительного сырья вместе с ними экстрагируются и многие другие соединения. В работе проводили сорбционное концентрирование флавоноидов и коричных кислот (КК). Рассматривали КК с разным числом гидроксильных групп квалификации «химически чистые»: коричную, п-кумаровую и кофейную (рис. 2.2). Некоторые физико-химические свойства коричных кислот приведены в таблице 2.2.



**Коричная кислота**  
((2E)-3-фенилпроп-2-еновая)



**п-Кумаровая кислота**  
((2E)-3-(4-гидроксифенил)проп-2-еновая)



**Кофейная кислота**  
((2E)-3-(3,4-дигидроксифенил)проп-2-еновая)

**Рис. 2.2.** Структурные формулы коричных кислот.

Таблица 2.2

Некоторые физико-химические характеристики коричных кислот

Название	Молярная масса, г/моль	logP	$pK_a$	Объем Ван-дер-Ваальса, Å <sup>3</sup>	Минимальный и максимальный проекционные радиусы, Å
Коричная кислота	148.2	2.14	4.32	136.2	3.4 5.8
п-Кумаровая кислота	164.2	1.83	3.81 9.51	144.6	3.4 6.1
Кофейная кислота	180.2	1.53	3.45 9.28	153.0	3.8 6.1

\*Рассчитаны с использованием программного обеспечения Marvin Sketch (ChemAxon).

### 2.1.3 Аскорбиновая кислота

В качестве объекта анализа рассматривали также аскорбиновую кислоту (AscA) квалификации «чистый для анализа» (рис. 2.3). Молярная масса составляет 176.12 г/моль, коэффициент распределения  $\log P$  – 1.5, константы диссоциации  $pK_a$  – 4.16 и 11.19.

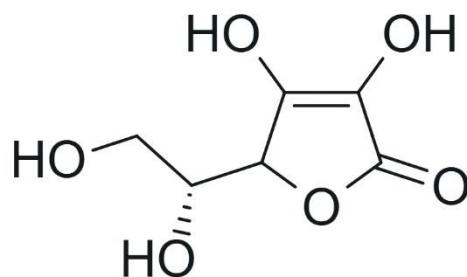


Рис. 2.3. Структурная формула аскорбиновой кислоты.

### 2.1.4 Упорядоченные кремнеземы

В настоящей работе рассматривали упорядоченные кремнеземы с разным размером мезопор и типом структуры (аналоги MCM-41, SBA-15, KIT-6, рис. 2.4, табл. 2.3). Особое внимание уделено сорбентам, аналогам SBA-15, для которых характерна более высокая стабильность, а также возможность варьирования свойств в процессе золь-гель синтеза.

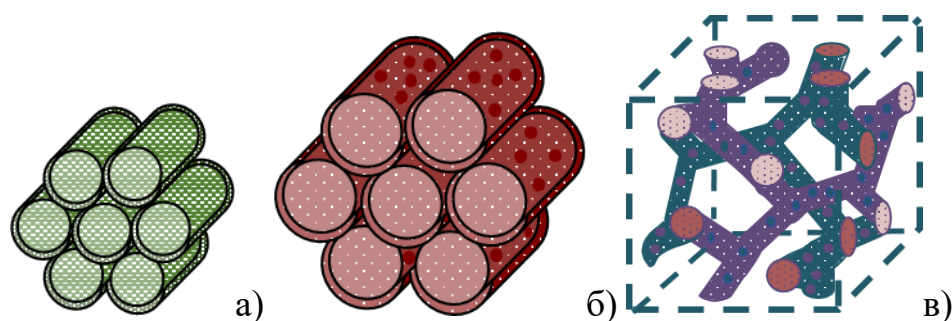


Рис. 2.4. Структуры упорядоченных мезопористых кремнеземов

Таблица. 2.3

Общая характеристика упорядоченных кремнеземов

Кремнезем	Темплат	Тип структуры	Размер мезопор, нм
MCM-41	Бромид цетилтриметиламмония	гексагональная	2-10
SBA-15	Блоксополимер Pluronic P123		4-15
KIT-6		кубическая	

Получение упорядоченных мезопористых кремнезёмов проводили методом золь-гель синтеза с гидротермальной обработкой [75]. В настоящей работе в качестве шаблона использовали триблоксополимер полиэтиленоксид-полипропиленоксид-полиэтиленоксида  $(EO)_{20}(PO)_{70}(EO)_{20}$  Pluronic P123 (Sigma Aldrich, Германия) и катионное поверхностно-активное вещество бромид цетилтриметиламмония (Panreac). Для формирования матрицы кремнезёма – коллоидный щелочной раствор  $SiO_2$  с торговой маркой Ludox HS-40 (Серия MS, MC) и тетраэтоксисилан (ТЭОС, образец ST). Расшифровка обозначений синтезированных твердофазных материалов приведена в табл. 2.4.

Таблица 2.4

Обозначения синтезированных кремнезёмов

Обозначение	Тип кремнезёма	Прекурсор	Добавки флавоноидов при синтезе
MC-T	аналоги MCM-41	ТЭОС	–
MC1		Ludox-HS-40	
MS-T	аналоги SBA-15	ТЭОС	
MS1		Ludox-HS-40	
MQSX			дигидрокверцетин
MDQS1			
MK1		аналог KIT-6	
SA	неупорядоченный силикагель		–

#### *Синтез сорбентов, аналогов SBA-15*

Аналоги SBA-15 получали в кислой среде с использованием блоксополимера Pluronic P123 в качестве темплата. Навеску неионогенного ПАВ растворяли в воде с добавкой соляной кислоты при  $T=40^{\circ}C$  (раствор А). В другой емкости при нагревании до  $60^{\circ}C$  получали раствор силиката натрия смешением коллоидного раствора  $SiO_2$  Ludox-HS-40 и гидроксида натрия (раствор Б). По каплям вносили раствор Б в раствор А. Мольное соотношение компонентов в реакционной смеси составило 1.0  $SiO_2$ : 0.005 P123: 1.8 HCl: 1.7 NaOH : 70  $H_2O$  (образец MS1).

Полученную смесь перемешивали при  $T=40^{\circ}\text{C}$  в течение 2 часов. После формирования золя переносили полученные смеси в автоклав для гидротермального синтеза, который выдерживали 16 ч при  $T=100^{\circ}\text{C}$ . Образцы фильтровали, последовательно промывали дистиллированной водой и этанолом с добавкой соляной кислоты. После высушивания кремнеземов проводили отжиг в муфельной печи при  $T=550^{\circ}\text{C}$  в течение 3 ч.

*Синтез сорбента, аналога SBA-15, с использованием тетраэтоксисилана*

Раствор А готовили как описано при синтезе кремнезема MS1. Добавляли тетраэтоксисилан для получения реакционной смеси с мольным соотношением 1,0  $\text{SiO}_2$  (ТЭОС): 0.016 P123: 0.91 HCl: 190  $\text{H}_2\text{O}$ . Дальнейшие этапы синтеза проводили аналогично образцу MS1. Полученный кремнезем обозначали как MS-T.

*Синтез сорбентов, аналогов SBA-15, в присутствии флавоноидов*

Синтез сорбентов в присутствии кверцетина (Quer) и дигидрокверцетина (dhQuer), как потенциальных аналитов, проводили аналогично образцу MS1. Перед смешением растворов А и Б вносили этанольный раствора флавоноида в раствор блоксополимера Pluronic P123. Мольное соотношение компонентов в реакционной смеси составило 1.0  $\text{SiO}_2$ : 0.005 P123: 1.8 HCl: 1.7 NaOH : 70  $\text{H}_2\text{O}$  : x флавоноид : y EtOH (табл. 2.5). Соотношения флавоноидов и этанола выбирали с учетом структурообразования блоксополимера Pluronic P123 по данным динамического рассеяния света (раздел 2.2.2).

Для характеристики синтезированных кремнеземов рассчитывали импринтинг фактор по формуле:

$$IF = \frac{Q_{MIS}}{Q_{NIS}}, \quad (2.1)$$

где  $Q_{MIS}$  и  $Q_{NIS}$  – полная динамическая сорбционная емкость кремнезема, синтезированного в присутствии флавоноида и немодифицированного сорбента (MS1), соответственно. Удаление кверцетина и блоксополимера из пор сорбента проводили последовательно экстракцией дистиллированной водой, затем 70%-ным этанолом, подкисленным соляной кислотой. Далее отжигали образцы при  $550^{\circ}\text{C}$ , при этом вместе с блоксополимером из мезопор удалялся флавоноид.

Мольные соотношения компонентов в реакционной смеси при синтезе сорбентов, аналогов SBA-15

Сорбент	x	y
MS1	0	0
MQS0	1.0·10 <sup>-4</sup> (Quer)	0
MQS1		0.4
MQS2		1.3
MQS3		2.0
MQS4	0.2·10 <sup>-5</sup> (Quer)	0.4
MQS5	5.0·10 <sup>-4</sup> (Quer)	
MDQS1	1.0·10 <sup>-4</sup> (dhQuer)	

#### *Синтез сорбента, аналога KIT-6*

Получение аналога KIT-6 (МК1) проводили подобно кремнезему MS1. Переход гексагональной структуры мезофазы блоксополимера Pluronic P123 происходит в присутствии бутанола-1 [88]. Мольное соотношение компонентов при синтезе составило 1.0 SiO<sub>2</sub>: 0.005 P123: 1.8 HCl: 1.7 NaOH : 70 H<sub>2</sub>O : 2.0 BuOH.

#### *Синтез сорбента, аналога MCM-41*

Аналоги MCM-41 получали в присутствии катионного ПАВ – бромида цетилтриметиламмония (ЦТАБ) в щелочной среде. Синтез МС-Т проводили из реакционной среды с мольным соотношением компонентов 1.0 SiO<sub>2</sub> (ТЭОС): 0.2 ЦТАБ: 21 NH<sub>3</sub>: 50 C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH: 475 H<sub>2</sub>O Мольное соотношение компонентов при синтезе образца МС1 составило 1.0 SiO<sub>2</sub> (Ludox-HS-40): 0.005 P123: 1.7 NaOH : 70 H<sub>2</sub>O.

### 2.1.4.1 Модификация упорядоченных мезопористых кремнезёмов триметилхлорсиланом

Модификацию упорядоченных кремнезёмов осуществляли в соответствии со схемой, приведенной на рисунке 2.5. Перед модификацией активировали сорбенты для удаления физически адсорбированной воды в сушильном шкафу при температуре 120 °С в течение 3 ч. 2.0 г сорбента помещали в коническую колбу емкостью 100 мл. Добавляли 0.035 г имидазола в качестве катализатора, 0.4 мл триметилхлорсилана, 80 мл хлороформа. Колбу оставляли на 30 часов в термостате (25 °С) на 30 часов. Кремнезёмы переносили на бумажные фильтры. Для удаления мешающих продуктов реакции и следов катализатора промывали сорбенты 80 мл хлороформа.

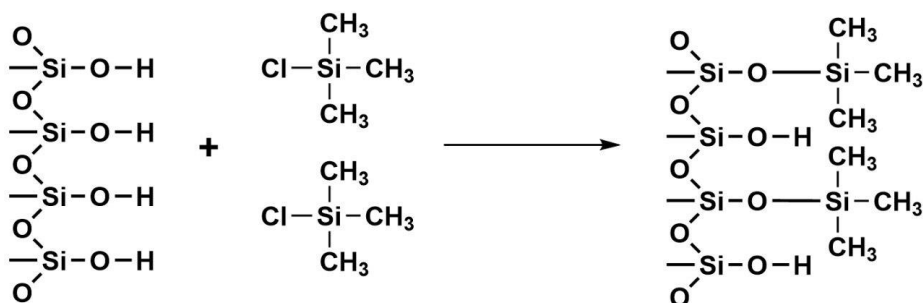


Рис. 2.5. Схема модификации кремнезёмов триметилхлорсиланом.

## 2.2 Методики анализа

### 2.2.1 Спектрофотометрическое определение полифенольных соединений

#### 2.2.1.1 Определение флавоноидов в индивидуальных растворах

Концентрацию полифенольных соединений в растворах определяли методом спектрофотометрии. Спектры регистрировали на спектрофотометре «Shimadzu UV-1800» (Япония). Длина оптического пути составляла 0.30 или 1.0 см. В качестве растворителей использовали ацетонитрил (Компонент-реактив, особо чистый, Россия), этанол и метанол. Основной стандартный раствор флавоноидов готовили по навеске, взятой на аналитических весах с точностью 0.0002 г.

Массу навески рассчитывали по формуле:

$$m = c \cdot V \cdot M,$$

где  $m$  – масса навески, г;  $c$  – концентрация флавоноида в растворе, моль/дм<sup>3</sup>;  $V$  – объем раствора, дм<sup>3</sup>,  $M$  – молярная масса флавоноида, г/моль.

Для построения градуировочной зависимости оптической плотности раствора от концентрации флавоноида готовили серию растворов с концентрациями  $0.5 \cdot 10^{-5}$ - $5.0 \cdot 10^{-5}$  моль/дм<sup>3</sup>. Определение концентрации флавоноидов в растворе проводили методом внешних стандартов. Равновесные концентрации флавоноидов рассчитывали по формуле:

$$c = A/l\varepsilon,$$

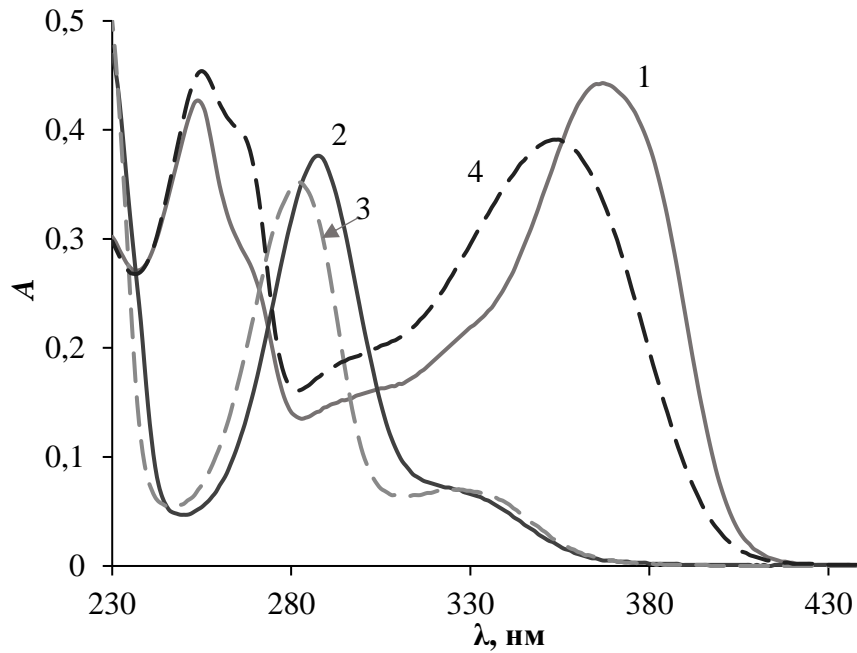
где  $c$  – концентрация флавоноида в растворе, моль/дм<sup>3</sup>;  $A$  – оптическая плотность;  $l$  – толщина поглощающего слоя;  $\varepsilon$  – молярный коэффициент поглощения, дм<sup>3</sup>·моль·см<sup>-1</sup>.

Метод спектрофотометрии, обладая высокой воспроизводимостью и чувствительностью, обусловленной величинами молярных коэффициентов светопоглощения рассматриваемых веществ порядка  $10^4$ , позволяет проводить определение флавоноидов с удовлетворительными метрологическими характеристиками (табл. 2.6).

Таблица 2.6

Аналитические характеристики определения флавоноидов в ацетонитрильных растворах методом спектрофотометрии

Вещество	$\lambda_{\max}$ , нм	$\varepsilon \cdot 10^4$ , дм <sup>3</sup> ·моль <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup>	$s_r$	$c_{\min} \cdot 10^6$ , моль/л
Кверцетин	255	0.205	0.05	1.5
	367	0.208	0.03	1.4
Дигидрокверцетин	287	1.78	0.03	0.9
Нарингин	282	1.72	0.02	0.8
Рутин	255	2.15	0.05	1.4
	355	1.86	0.04	2.0



**Рис. 2.6.** УФ-спектры поглощения электромагнитной энергии ацетонитрильными растворами флавоноидов ( $c=0.07$  ммоль/л): 1 – кверцетин, 2 – дигидрокверцетин, 3 – нарингин, 4 – рутин.

### 2.2.1.2 Определение полифенольных соединений при совместном присутствии

Определение веществ при совместном присутствии основано на законе аддитивности оптической плотности. Оптическая плотность смеси веществ  $A^\lambda$ , не взаимодействующих друг с другом и поглощающих электромагнитное излучение при длине волны  $\lambda$ , определяется выражением:

$$A^\lambda = \sum_i A_i^\lambda = l \sum_i \varepsilon_i^\lambda c_i,$$

где  $A_i^\lambda = \varepsilon_i^\lambda c_i l$  – парциальная оптическая плотность  $i$ -го вещества;  $\varepsilon_i$  – молярный коэффициент поглощения  $i$ -го вещества;  $c_i$  – концентрация  $i$ -го вещества.

Количественный анализ смеси двух веществ с известными молярными коэффициентами поглощения выражается в уравнениях Фирордта:

$$\begin{cases} A^{\lambda_1} = \varepsilon_1^{\lambda_1} c_1 l + \varepsilon_2^{\lambda_1} c_2 l \\ A^{\lambda_2} = \varepsilon_1^{\lambda_2} c_1 l + \varepsilon_2^{\lambda_2} c_2 l. \end{cases}$$

Решения системы уравнений имеют вид:

$$c_1 = \frac{\begin{vmatrix} A^{\lambda_1} & \varepsilon_2^{\lambda_1} l \\ A^{\lambda_2} & \varepsilon_2^{\lambda_2} l \end{vmatrix}}{\begin{vmatrix} \varepsilon_1^{\lambda_1} l & \varepsilon_2^{\lambda_1} l \\ \varepsilon_2^{\lambda_2} l & \varepsilon_2^{\lambda_2} l \end{vmatrix}} = \frac{\varepsilon_2^{\lambda_2} A^{\lambda_1} - \varepsilon_2^{\lambda_1} A^{\lambda_2}}{(\varepsilon_1^{\lambda_1} \varepsilon_2^{\lambda_2} - \varepsilon_1^{\lambda_2} \varepsilon_2^{\lambda_1}) l}$$

$$c_2 = \frac{\begin{vmatrix} \varepsilon_1^{\lambda_1} l & A^{\lambda_1} \\ \varepsilon_1^{\lambda_2} l & A^{\lambda_2} \end{vmatrix}}{\begin{vmatrix} \varepsilon_1^{\lambda_1} l & \varepsilon_2^{\lambda_1} l \\ \varepsilon_2^{\lambda_2} l & \varepsilon_2^{\lambda_2} l \end{vmatrix}} = \frac{\varepsilon_1^{\lambda_1} A^{\lambda_2} - \varepsilon_1^{\lambda_2} A^{\lambda_1}}{(\varepsilon_1^{\lambda_1} \varepsilon_2^{\lambda_2} - \varepsilon_1^{\lambda_2} \varepsilon_2^{\lambda_1}) l}$$

В качестве аналитических выбирали длины волн, при которых достигаются максимальные значения разностей  $\varepsilon_1^{\lambda_i} - \varepsilon_2^{\lambda_i}$ . Модельные смеси готовили разбавлением стандартных растворов флавоноидов с концентрацией  $0,5 \cdot 10^{-3}$  моль/дм<sup>3</sup>. В случае системы кверцетин – нарингин аналитические длины волн совпадают с  $\lambda_{\max}$  индивидуальных растворов флавоноидов (282 и 367 нм, соответственно). При определении концентраций в бинарных растворах кверцетина и рутина аналитические длины волн выбирали по максимальным разностям  $\varepsilon_{\text{Rut}}^{\lambda_i} - \varepsilon_{\text{Quer}}^{\lambda_i}$ .

В работе исследовали бинарные ацетонитрильные растворы кверцетин-нарингин и кверцетин-рутин. Диапазон концентраций полифенолов находили в соответствии с величиной молярного коэффициента светопоглощения в пределах линейности градуировочного графика индивидуальных веществ. Оценка правильности и воспроизводимости проводилась в соответствии с методом «введено-найдено». Как видно из таблиц 2.7 и 2.8, во всем диапазоне рассматриваемых концентраций относительная погрешность определения не превышает 10%. Рассчитанные метрологические характеристики позволяют использовать спектрофотометрию в варианте метода Фирордта для обработки результатов по сорбционному разделению флавоноидов.

Таблица 2.7

Характеристики определения кверцетина и нарингина при совместном присутствии в ацетонитрильных растворах\*

Соотношение	Вещество	$c \cdot 10^5$ , моль/л, введено	$c \cdot 10^5$ , моль/л, найдено	$\Delta c/c$ , %
1:1	кверцетин	7.00	7.04±0.05	0.6
	нарингин	7.00	6.66±0.05	4.8
1:1	кверцетин	3.50	3.58±0.03	2.3
	нарингин	3.50	3.66±0.04	4.6
2:1	кверцетин	7.00	7.21±0.05	3.0
	нарингин	3.50	3.44±0.03	1.5
5:1	кверцетин	3.50	3.34±0.03	4.6
	нарингин	0.70	0.67±0.02	4.7
10:1	кверцетин	7.00	7.14±0.04	2.1
	нарингин	0.70	0.69±0.02	1.6

\* Аналитические длины волн – 282 ( $\lambda_{\max}$  нарингина) и 367 нм ( $\lambda_{\max}$  кверцетина).

Таблица 2.8

Характеристики определения кверцетина и рутина при совместном присутствии в ацетонитрильных растворах\*

Соотношение	Вещество	$c \cdot 10^5$ , моль/л, введено	$c \cdot 10^5$ , моль/л, найдено	$\Delta c/c$ , %
1:1	кверцетин	7.00	7.26±0.04	3.7
	рутин	7.00	6.72±0.05	4.0
1:1	кверцетин	3.50	3.62±0.03	3.4
	рутин	3.50	3.35±0.04	4.3
2:1	кверцетин	7.00	7.14±0.04	2.1
	рутин	3.50	3.54±0.02	1.3
5:1	кверцетин	3.50	3.64±0.03	4.0
	рутин	0.70	0.68±0.02	3.0
10:1	кверцетин	7.00	6.88±0.06	1.6
	рутин	0.70	0.65±0.02	7.3

\* Аналитические длины волн – 288 ( $\lambda$ , при которой максимальна разность  $\epsilon_{Rut}^{\lambda_i} - \epsilon_{Quer}^{\lambda_i}$ ) и 367 нм ( $\lambda_{\max}$  кверцетина).

*Определение рутина и аскорбиновой кислоты при совместном присутствии в растворах*

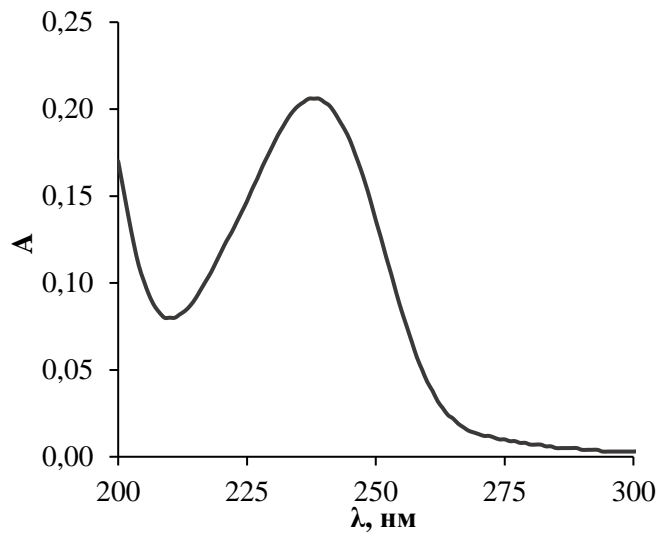
Изучение селективности синтезированных кремнезёмов при сорбционном концентрировании и разделении рассматривали при сорбции рутина в присутствии аскорбиновой кислоты (УФ-спектр поглощения приведен на рис. 2.7). Концентрацию аналитов в ацетонитрильных растворах определяли методом Фирордта при длинах волн, соответствующих  $\lambda_{\max}$  индивидуальных растворов. Относительная погрешность определения рутина в присутствии аскорбиновой кислоты не превышает 5 % (табл. 2.9). Для аскорбиновой кислоты  $\Delta c/c$  достигает 6.3 %.

Таблица 2.9

Характеристики определения рутина и аскорбиновой кислоты при совместном присутствии в ацетонитрильных растворах\*

Соотношение	Вещество	$c \cdot 10^5$ , моль/л, введено	$c \cdot 10^5$ , моль/л, найдено	$\Delta c/c$ , %
1:1	рутин	7.00	7.14±0.05	2.0
	аскорбиновая кислота	7.00	6.78±0.05	3.2
1:1	рутин	3.50	3.58±0.04	2.3
	аскорбиновая кислота	3.50	3.28±0.04	6.3
5:1	рутин	3.50	3.57±0.04	2.1
	аскорбиновая кислота	0.70	0.72±0.02	3.6
1:5	рутин	3.50	3.41±0.03	2.6
	аскорбиновая кислота	17.50	17.37±0.06	0.8
10:1	рутин	7.00	7.15±0.06	2.1
	аскорбиновая кислота	0.70	0.73±0.02	4.9

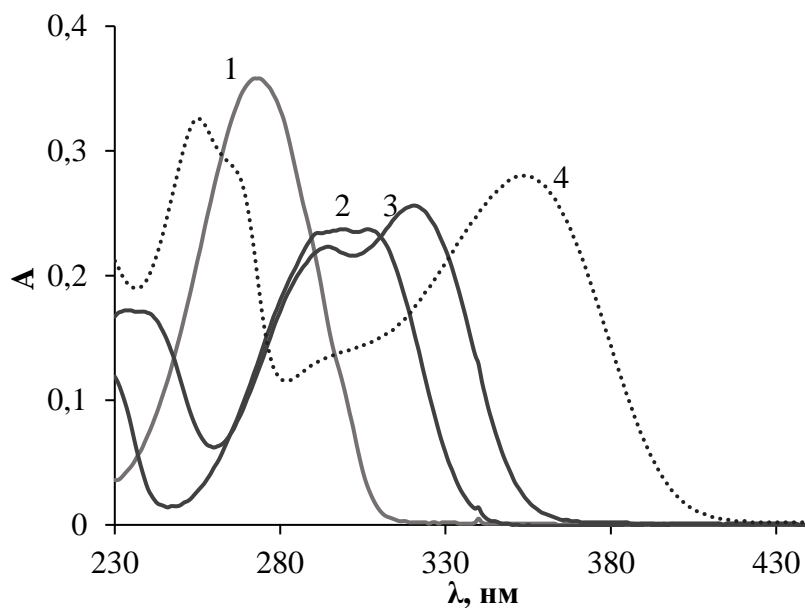
\* Аналитические длины волн – 238 ( $\lambda_{\max}$  аскорбиновой кислоты) и 355 нм ( $\lambda_{\max}$  рутина).



**Рис. 2.7.** УФ-спектр поглощения электромагнитной энергии ацетонитрильным раствором аскорбиновой кислоты ( $c=0.07$  ммоль/л).

*Определение рутина и коричневых кислот при совместном присутствии в ацетонитрильных растворах*

На рисунке 2.8 приведены УФ-спектры поглощения электромагнитной энергии ацетонитрильными растворами рутина и рассматриваемых в работе коричневых кислот.



**Рис. 2.8.** УФ-спектры поглощения электромагнитной энергии ацетонитрильными растворами: 1 – коричневой кислоты; 2 – п-кумаровой кислоты; 3 – кофейной кислоты; 4 – рутина.  $c=0.05$  ммоль/л.

## 2.2.2 Исследование структурообразования неионогенного ПАВ в растворе методом динамического рассеяния света

В качестве шаблона при синтезе упорядоченных мезопористых кремнеземов использовали блоксополимер Pluronic P123 (Sigma Aldrich, Германия). Это блоксополимер полиэтиленоксид-полипропиленоксид-полиэтиленоксида  $(PEO)_{20}(PPO)_{70}(PEO)_{20}$ . Средняя числовая молекулярная масса равна 5800. Является неионогенным поверхностно-активным веществом. В водных растворах формирует мицеллярные образования определенной структуры в зависимости от условий [96].

Исследование структурообразования неионогенного ПАВ Pluronic P123 проводили при его концентрации 2.6 мас.% в 1.6 М растворах соляной кислоты. При изучении влияния добавок веществ, обладающих способностью растворять блоксополимер P123, вносили заданные объемы этанола, бутанола-1 и/или этанольного раствора кверцетина, получая растворы с мольным соотношением компонентов, приведенные в таблице 2.10.

Таблица 2.10

Соотношение компонентов в исследуемых растворах

Вещество	Соотношение $n(\text{добавка}):n(\text{P123})=x:1$
Бутанол-1 (BuOH)	40, 60, 80, 160
Этанол (EtOH)	80, 160, 250, 370
Кверцетин (Quer)	0.024, 0.072, 0.144

Распределение частиц по размерам в исследуемых растворах определяли на анализаторе Nano Zetasizer ZS instrument (Malvern Instruments, Великобритания) в интервале температур 15-45 °С. В качестве источника излучения выступал He/Ne лазер мощностью 4 мВт и длиной волны 633 нм. Угол рассеяния составлял 173°. Перед измерениями пропускали анализируемые растворы через мембранный фильтр Spritzen-/Syringe-Filter 0.45 мкм для удаления пыли и других посторонних частиц. Распределения частиц по размерам в единицах интенсивности получали из

анализа автокорреляционных функций с использованием алгоритма General purpose программного обеспечения анализатора. Распределения по размерам в единицах объема и числа частиц проводилось согласно теории Ми. Средний размер частиц в системе определяли методом кумулянтов. Гидродинамический диаметр частиц рассчитывали по уравнению Стокса-Эйнштейна:

$$d_h = \frac{k_B T}{3\pi\eta D_o}, \quad (2.2)$$

где  $d_h$  – гидродинамический диаметр частиц, нм;  $k_B$  – постоянная Больцмана,  $1.38 \cdot 10^{-23}$  Дж/К;  $T$  – температура, К;  $\eta$  – вязкость растворителя, Па·с;  $D_o$  – коэффициент диффузии, м<sup>2</sup>/с.

Индекс полидисперсности  $PDI$  рассчитывали по формуле:

$$PDI = \frac{\sigma^2}{d_h^2}, \quad (2.3)$$

где  $\sigma$  – стандартное отклонение гидродинамического диаметра, нм.

### 2.2.3 Изучение структуры и пористости кремнезёмов методом низкотемпературной адсорбции/десорбции азота

Изотермы низкотемпературной адсорбции/десорбции азота получали при температуре 77 К на анализаторе Micromeritics ASAP 2060 в интервале относительного давления  $p/p_o$  от  $10^{-5}$  до 0.995. Перед каждым измерением проводили дегазацию образцов при температуре 150 °С в течение 8 ч при относительном давлении 6–8 мбар. Площадь поверхности ( $S$ ), диаметр ( $d_p$ ), объём пор ( $V_p$ ) и распределение пор по размерам оценивали по данным адсорбционной ветви изотермы адсорбции азота методами Брунауэра-Эммета-Теллера (БЭТ, ВЕТ) и Баррета-Джойнера-Халенда (БДХ, ВЛН) [153].

Для определения величины площади поверхности методом Брунауэра-Эммета-Теллера изотерму адсорбции преобразовывали в график БЭТ для получения значения удельной ёмкости монослоя  $n_m$ . Зная площадь, занятую

молекулой адсорбата в насыщенном монослое  $\sigma_m$ , находили площадь поверхности. Уравнение БЭТ в линейной форме имеет вид:

$$\frac{p/p^0}{n(1 - p/p^0)} = \frac{1}{n_m C} + \frac{C - 1}{n_m C} (p/p^0),$$

где  $n$  – удельное количество адсорбированного вещества;  $p/p^0$  – относительное давление;  $C$  – параметр, экспоненциально связанный с энергией адсорбированного монослоя [153].

Удельную площадь поверхности  $S(\text{БЭТ})$  рассчитывали как:

$$S(\text{БЭТ}) = \frac{n_m N_A \sigma_m}{m},$$

где  $m$  – масса сорбента;  $N_A$  – константа Авогадро.

#### **2.2.4 Изучение структуры и гидратации кремнезёмов методом ИК-спектроскопии**

Структуру и гидратацию синтезированных кремнезёмов изучали методом ИК-спектроскопии в режиме нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) на ИК-Фурье спектрометре Bruker VERTEX 70 в диапазоне волновых чисел 400–4000  $\text{см}^{-1}$  с шагом 4  $\text{см}^{-1}$ . Для сравнения интенсивностей спектральных линий проводили обработку ИК-спектров методом базисной линии с нормировкой на интенсивность спектрального максимума при волновом числе  $\sim 1060 \text{ см}^{-1}$  (валентные колебания Si-O-Si). Оценку плотности свободных силанольных групп проводили методом базисной линии, проведенной к соответствующей полосе поглощения.

## **2.2.5 Сорбционное концентрирование полифенольных соединений на упорядоченных кремнеземах**

### **2.2.5.1 Изучение сорбции флавоноидов на упорядоченных кремнеземах в статических условиях**

В статических условиях определяли сорбционную емкость мезопористых кремнезёмов методом ограниченного объема, согласно которому сорбционный процесс происходит в ограниченном объёме раствора на сорбенте определённой массы при перемешивании раствора [154]. При этом изменяется концентрация сорбируемого вещества в растворе.

Навески с диаметром частиц 0.10-0.25 мм предварительно активированного при 120 °С в течение 2 ч кремнезема массой  $m=0.100$  г приводили в контакт с 10,00 мл рабочего раствора флавоноида с концентрацией  $1.4 \cdot 10^{-4}$  моль/л, отбирали пробы объемом 3 мл после установления равновесия. Концентрацию флавоноидов в растворе определяли спектрофотометрическим методом до сорбции и в отобранных пробах. Сорбционную емкость рассчитывали по формуле:

$$Q = \frac{(c_0 - c_e)V}{m}, \quad (2.4)$$

где  $Q$  – сорбционная емкость, ммоль/г;  $c_0$  и  $c_e$  – исходная и равновесная концентрация флавоноида в контактирующем растворе, соответственно, ммоль/дм<sup>3</sup>;  $V$  – объем контактирующего раствора флавоноида, дм<sup>3</sup>;  $m$  – масса навески сорбента, г.

### **2.2.5.2 Изучение сорбционных свойств упорядоченных кремнезёмов методом выходных кривых**

Сорбцию флавоноидов на упорядоченных мезопористых кремнеземах в динамических условиях проводили в режиме фронтальной хроматографии. Выходные кривые получали при пропускании ацетонитрильных растворов флавоноидов ( $c=0.07$  ммоль/л) через колонку с сорбентом, предварительно

высушенным при 120 °С в течение 2 ч. Диаметр колонки составлял 5 мм, высота слоя сорбента 4.0 см, масса сорбента 0.200 г, диаметр частиц 0.1-0.25 мм. Объемная скорость поддерживалась постоянной, равной 0.2 см<sup>3</sup>/мин. Для построения выходных кривых сорбции аналитов отбирали фракции объемом 0.3-0.5 см<sup>3</sup>. Концентрацию веществ в растворах определяли методом спектрофотометрии, как указано в разделе 2.2.1. Десорбцию веществ осуществляли после достижения степени завершенности процесса ( $c/c_0=1.0$ ).

Фактор удерживания (коэффициент емкости) рассчитывали по формуле:

$$k' = \frac{V_R - V_m}{V_m} \quad (2.5)$$

где  $k'$  – фактор удерживания,  $V_R$  – объем удерживания, мл,  $V_m$  – мертвый объем, мл.

Степень извлечения  $R$  рассчитывали, как отношение количества вещества, удерживаемого слоем сорбента  $n$ , к общему количеству вещества пропущенного компонента  $n_0$ :

$$R = n/n_0. \quad (2.6)$$

Коэффициент концентрирования  $K_{\text{конц}}$  рассчитывали, как отношение концентраций компонента в концентрате  $c_{\text{конц}}$  к исходной концентрации  $c_0$ :

$$K_{\text{конц}} = \frac{c_{\text{конц}}}{c_0}. \quad (2.7)$$

Разделение флавоноидов при сорбции из бинарных растворов характеризовали разрешением пиков  $R_s$ :

$$R_s = \frac{V_{R_2} - V_{R_1}}{w_2 + w_1}, \quad (2.8)$$

где  $V_{R_2}$  и  $V_{R_1}$  – объемы удерживания более и менее удерживаемых компонентов, мл;  $w_1$  и  $w_2$  – ширина пиков на половине высоты при построении выходных кривых в дифференциальном виде.

Коэффициент селективности  $\alpha$ :

$$\alpha = \frac{V'_{R_2}}{V'_{R_1}}, \quad (2.9)$$

где  $V'_{R_2}$  и  $V'_{R_1}$  – исправленные объемы удерживания более и менее удерживаемого компонента раствора, соответственно, см<sup>3</sup>.

## 2.2.6 Твердофазная экстракция флавоноидов из модельных растворов

ТФЭ флавоноидов в динамических условиях проводили на колонках, заполненных 0.1000 г сорбента с размером частиц 0.05-0.10 мм. Концентрации ацетонитрильных растворов составили  $1.0 \cdot 10^{-5}$  моль/дм<sup>3</sup>. Растворы пропускали со скоростью 0.2 см<sup>3</sup>/мин. Десорбцию проводили при варьировании растворителя: метанолом, этанолом, ацетонитрилом, этилацетатом, и дистиллированной водой. Рассчитывали коэффициент концентрирования  $K_{\text{конц}}$  как отношение концентраций компонента в исходном растворе и после десорбции 1.0 см<sup>3</sup> растворителя. Степень извлечения рассчитывали как отношение количества вещества флавоноида после десорбции 1.0 см<sup>3</sup> растворителя к пропущенному количеству вещества через слой сорбента.

### 2.2.6.1 Твердофазная экстракция из модельных растворов рутина

#### в присутствии коричных кислот

Твердофазную экстракцию рутина и коричных кислот проводили из бинарных ацетонитрильных растворов с концентрацией каждого компонента, равной  $1.0 \cdot 10^{-5}$  моль/дм<sup>3</sup>. Растворы пропускали со скоростью 0.2 см<sup>3</sup>/мин. Десорбцию проводили при варьировании растворителя: этанолом и ацетонитрилом. Рассчитывали абсолютный коэффициент концентрирования  $K_{\text{конц}}$  как отношение концентраций компонента в исходном растворе и после десорбции 1.0 см<sup>3</sup> растворителя. Относительный коэффициент концентрирования  $K_{\text{отн}}$  рассчитывали как:

$$K_{\text{отн}} = \frac{n_{\text{к}}/n'_{\text{к}}}{n_{\text{пр}}/n'_{\text{пр}}}, \quad (2.10)$$

где  $n_{\text{к}}$  и  $n_{\text{пр}}$  – количество вещества аналита в концентрате и пробе, соответственно, моль;  $n'_{\text{к}}$  и  $n'_{\text{пр}}$  – количество вещества примеси в концентрате и пробе, соответственно, моль.

## **2.2.7 Упорядоченные мезопористые кремнеземы при анализе реальных объектов**

### **2.2.7.1. Дисперсионная твердофазная экстракция**

Дисперсионную твердофазную экстракцию проводили на модельных ацетонитрильных растворах смеси кверцетин–аскорбиновая кислота с концентрациями 0.050-0.100 ммоль/дм<sup>3</sup>. Раствор объемом 1.00 см<sup>3</sup> помещали в пробирку Эппендорфа емкостью 1.5 см<sup>3</sup>, содержащую 50.0 мг сорбента (MS1, MQS1). Оставляли на 3 минуты под действием ультразвука. Отбирали 0.70 см<sup>3</sup> раствора, который анализировали методом спектрофотометрии.

Спектрофотометрическое определение кверцетина проводили в растворе биологически активной добавки «Артроцин», в состав которой входят растительные экстракты, содержащие кверцетин и аскорбиновую кислоту. Содержимое капсулы растворяли в 50.00 см<sup>3</sup> ацетонитрила, из которых отбирали 10.00 см<sup>3</sup> для разбавления в колбе емкостью 50.00 см<sup>3</sup>. Проводили спектрофотометрическое определение кверцетина в полученном растворе после пробоподготовки в варианте дисперсионной твердофазной экстракции, как указано в настоящем разделе для модельных растворов.

### **2.2.7.2 Твердофазная экстракция полифенольных веществ из растительных объектов**

Соцветия липы высушивали на воздухе при комнатной температуре без доступа прямых солнечных лучей. Извлечение флавоноидов, содержащихся в соцветиях липы, проводили в соответствии с методикой в работе [155]. Навеску образца массой 2.000 г измельченной пробы заливали 96%-ным этанолом объемом 50 мл. Далее проводили обработку ультразвуком при 60 °С в течение 20 минут. Последующее выпаривание растворителя до его полного испарения осуществляли на роторном испарителе Labtex ИР-1 ЛТ при 50 °С в течение 20 минут и скорости

вращения 200 об./мин. Сухой остаток растворяли в ацетонитриле для последующей твердофазной экстракции и хроматографического анализа.

Твердофазную экстракцию проводили, пропуская полученный экстракт со скоростью 0.2 см<sup>3</sup>/мин через колонку, заполненную 0.1000 г сорбента с диаметром частиц 0.05-0.10 мм. Элюирование аналитов осуществляли 96%-ным этанолом. Строили выходные кривые сорбции компонентов раствора в координатах  $A/A_0 - V/V_0$ , где  $A$  и  $A_0$  – оптическая плотность при заданной длине волны  $i$ -ой фракции и исходного раствора, соответственно. Коэффициент концентрирования рассчитывали как отношение оптических плотностей при заданной длине волны концентрата и исходного экстракта.

### 2.2.7.3 Матричное твердофазное диспергирование

Навеску порошка соцветий липы массой 50.0 мг смешивали с навеской кремнезема массой 50.0 мг до образования однородной смеси в течение ~1 мин. Полученную смесь переносили в картридж для твердофазной экстракции. Экстракцию аналитов проводили пропусканием растворителя (ацетонитрила или этанола) через слой сорбента с диспергированной пробой. Элюат собирали для дальнейшей очистки твердофазной экстракцией на второй колонке. Пропускали раствор через колонку, заполненную 50.0 мг сорбента. Элюирование проводили последовательно ацетонитрилом и этанолом. Полученные растворы анализировали методами спектрофотометрии и ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием. Хроматографическое определение рутина проводили на хроматографе Маэстро ВЭЖХ (Россия) с колонкой Kromasil 100-3.5-C18 (4,6×150 мм) и предколонкой Kromasil 100-5-C18. В качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрила, бидистиллированной воды и муравьиной кислоты в объемном соотношении 25 : 75 : 0.1. Детектирование проводили при длине волны 355 нм, соответствующей максимуму поглощения электромагнитного излучения рутина.

### 2.3 Математическая обработка результатов эксперимента

Определение полифенольных соединений проводили методом внешнего стандарта. В случаях, когда градуировочная зависимость оптической плотности  $A$  (в спектрофотометрии) или площадь хроматографического пика  $S$  (о.е.п.) от концентрации  $c$  (моль/л или мг/мл) имеет вид прямой, то обработку проводили методом наименьших квадратов и описывали уравнением  $y=a+bx$ , где  $y$  – аналитический сигнал ( $A$  или  $S$ ),  $x$  – концентрация ( $c$ ). Согласно методу наименьших квадратов параметры прямой  $a$  и  $b$  определяются выражениями [156]:

$$a = \frac{\sum y_i \sum x_i^2 - \sum x_i \sum x_i y_i}{m \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}; \quad b = \frac{m \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{m \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2};$$

Степень разброса экспериментальных данных относительно линии регрессии  $y=a+bx$  оценивают с помощью дисперсии:

$$s_o^2 = \frac{\sum (y_i - Y_i)^2}{n - 2},$$

где  $y_i$  – измеренное значение функции;  $Y_i$  – теоретическое значение функции, вычисленное по уравнению регрессии для заданного значения  $x_i$ ;  $n$  – число пар значений ( $x_i; y_i$ ), использованных для построения градуировочного графика.

Для оценки метрологических характеристик методик определения веществ рассчитывали стандартные отклонения по формуле [156]:

$$s(x) = s_o \frac{1}{b} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_x - \bar{y})^2}{b^2 \sum (x_i - \bar{x})^2}},$$

где  $\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$ ,  $\bar{y} = \frac{\sum y_i}{n}$ ,  $s_o$  – стандартное отклонение, характеризующее отклонение экспериментальных значений  $y_i$  относительно рассчитанных  $Y_i$ ,  $s_o = \sqrt{s_o^2}$ .

Воспроизводимость характеризует рассеяние единичных измерений относительно среднего. Величина воспроизводимости определяется относительным стандартным отклонением, выражаемым уравнением:

$$s_r(x) = \frac{s_o}{x}$$

Из полученных величин стандартных отклонений  $s(x)$  рассчитывали доверительные интервалы:

$$\Delta x = t_{0,95;f=n-2} \cdot s(x),$$

где  $t_{0,95;f=n-2}$  – коэффициент Стьюдента для данной степени свободы и доверительной вероятности  $P=0,95$ .

Относительные погрешности определения концентраций веществ рассчитывали по формуле:

$$\frac{\Delta c}{c}, \% = 2,3 \Delta x \cdot 100.$$

Предел обнаружения при спектрофотометрическом определении концентрации флавоноидов рассчитывали по формуле:

$$c_{min} = \frac{3s_0}{S}.$$

### **Глава 3. Варьирование структуры и сорбционных свойств упорядоченных мезопористых кремнеземов при их синтезе**

#### **3.1. Изучение особенностей структурообразования блоксополимера Pluronic P123 как шаблона при синтезе упорядоченных мезопористых кремнеземов**

Одно из преимуществ упорядоченных мезопористых кремнеземов – возможность получения материалов с заданными структурными и поверхностными свойствами, в т.ч. количеством и природой сорбционных центров. Структурные и поверхностные характеристики кремнеземов определяются совокупным влиянием всех стадий синтеза. Наиболее простым подходом к варьированию свойств упорядоченных материалов является использование зависимости структурообразования темплата от условий. Сложность процессов, протекающих при золь-гель синтезе упорядоченных мезопористых кремнеземов, предполагает оценку сохранения особенностей структурообразования блоксополимера при последующем добавлении силиката. Однако отсутствуют работы по сопоставлению особенностей формирования мезофаз темплата со свойствами упорядоченных кремнеземов. Выбор условий синтеза остается эмпирическим.

В настоящем разделе рассмотрены особенности структурообразования блоксополимера Pluronic P123, использующегося как шаблон (темплат) при синтезе кремнеземов, аналогов SBA-15 и KIT-6, для возможности получения материалов с заданными свойствами. Размеры и дисперсность мицелл Pluronic P123 рассматривали в зависимости от температуры и добавок бутанола-1 для сопоставления с известными литературными данными по структурным и поверхностным характеристикам кремнеземов. Следующий этап работы состоял в изучении процессов структурообразования темплата в присутствии кварцетина в водно-этанольных растворах для последующего выбора условий синтеза кремнеземов с высокой селективностью по отношению к флавоноидам.

### 3.1.1 Влияние температуры на мицеллообразование Pluronic P123

Блок-сополимеры типа полиэтиленоксид-полипропиленоксид-полиэтиленоксид  $(EO)_x(PO)_y(EO)_x$ , к которым относится Pluronic 123, во многих отношениях ведут себя так же, как низкомолекулярные поверхностно-активные вещества (ПАВ). Они образуют лиотропные жидкокристаллические фазы различных типов в зависимости от концентрации, температуры, природы растворителя и других условий [157]. При этом по сравнению с низкомолекулярными ПАВ у указанных соединений критическая концентрация мицеллообразования и их поверхностная активность сильнее зависят от температуры [96].

Способность к мицеллообразованию определяется свойствами самого ПАВ (количество звеньев в цепи, соотношение длины и последовательность блоков) [96] и такими факторами, как температура, природа и состав растворителя, присутствие других веществ [157]. Влияние температуры при изучении структурообразования неионогенных ПАВ является одним из наиболее существенных [96, 158, 159]. Очевидно, при варьировании температуры можно ожидать изменения взаимодействий ПАВ-растворитель, ПАВ-добавка [160], что требует детального рассмотрения, в том числе, изучения структурообразования блоксополимера P123 при варьировании температуры в присутствии флавоноидов.

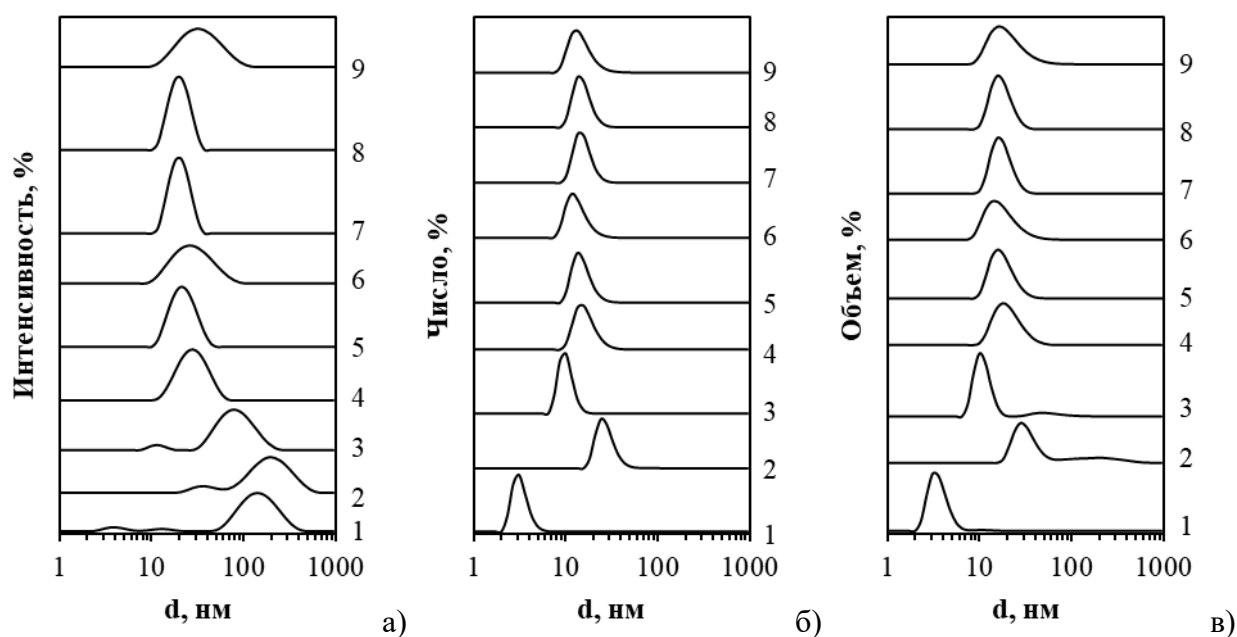
Одним из методов, который дает информацию о размере и дисперсности надмолекулярных образований, в том числе в условиях формирования наночастиц поверхностно-активных веществ, является динамическое рассеяние света (ДРС) [161–163]. Полученная зависимость среднего гидродинамического диаметра  $d_h$  частиц в растворе P123 от температуры имеет немонотонный характер (табл. 3.1) [164]. Наибольшие изменения отмечены при температурах 15-20 °С [165]. В этих условиях распределение интенсивностей по размерам полимодально, что указывает на присутствие в системе макромолекул (в том числе примесей моно- и диблоков [166]) и их агрегатов при температурах ниже 21 °С (рис. 3.1, табл. 3.1). Величины  $d_h$  частиц в водном растворе ПАВ и вид кривых распределения

по размерам при дальнейшем повышении температуры до 45 °С указывают на формирование мицелл [167].

Таблица 3.1

Средний гидродинамический диаметр  $d_h$  и индекс полидисперсности ( $PDI$ ) частиц в водных растворах Pluronic P123 при варьировании температуры

$T, ^\circ\text{C}$	$d_h, \text{нм}$	$PDI$
15	$94 \pm 6$	$0.52 \pm 0.01$
20	$24.5 \pm 0.2$	$0.23 \pm 0.01$
25	$21.0 \pm 0.2$	$0.09 \pm 0.01$
30	$25.2 \pm 1.2$	$0.19 \pm 0.01$
35	$20.5 \pm 0.2$	$0.05 \pm 0.01$
40	$20.6 \pm 0.2$	$0.03 \pm 0.01$
45	$30.2 \pm 0.2$	$0.18 \pm 0.01$



**Рис. 3.1.** Распределение по размерам в растворе P123 при варьировании температуры (1 – 15 °С, 2 – 17 °С, 3 – 20 °С, 4 – 21 °С, 5 – 25 °С, 6 – 30 °С, 7 – 35 °С, 8 – 40 °С, 9 – 45 °С): а) по интенсивности рассеяния; б) по числу частиц; в) по объему [164].

Наибольший вклад в интенсивность рассеянного света вносят частицы большего размера [168], поэтому для анализа полидисперсных систем необходимо

построение кривых распределения по размерам по объему и по числу частиц. Как видно на рис. 3.1 в, при  $T=15$  °С (кривая 1), в координатах число (объем) – гидродинамический диаметр, остается единственный пик с  $d_h < 10$  нм. Это согласуется с работой [96], в которой показано, что при  $T < 20$  °С в водных растворах Pluronic P123 мицеллы не образуются. На кривых 2 и 3 ( $T=17$  и  $20$  °С) в случае распределения по числу частиц и особенно по интенсивности рассеянного света (рис. 3.1 а, б), остается значительный вклад частиц с размером, превышающим 10 нм. Вероятно, в этих условиях преобладают недиффузионные процессы, что является ограничением для получения достоверных данных методом динамического рассеяния света и требует привлечения других методов [168]. Для блоксополимеров причинами появления дополнительных пиков на кривых распределения могут быть композиционная неоднородность [169] и межцепная динамика [170].

По литературным данным [75], диапазон температур 25-40 °С обеспечивает формирование упорядоченных гексагональных мицеллярных структур, необходимых при использовании ПАВ в качестве шаблона для синтеза упорядоченных кремнезёмов типа SBA-15 [171]. Следует также указать, что дисперсия размера мицелл в интервале температур 35-40 °С существенно ниже, чем при комнатной температуре (рис. 3.1) [165]. В этих условиях размер частиц и дисперсность остаются постоянными при изменении температуры на 3-5 градусов, что позволяет получать кремнезёмы с воспроизводимыми свойствами [172]. Таким образом, особенности структурообразования Pluronic P123 от температуры по данным динамического рассеяния света согласуются со свойствами синтезированных в соответствующих условиях кремнезёмов [171].

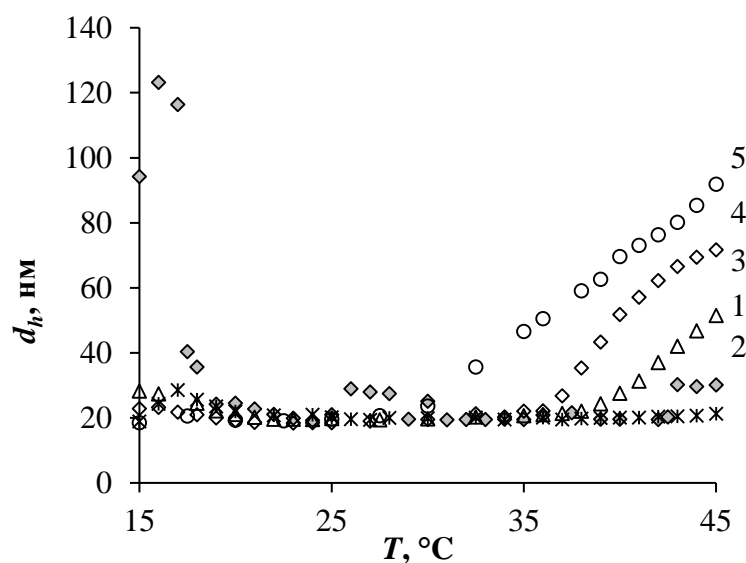
### 3.1.2 Влияние добавок бутанола-1 на структуру мицелл Pluronic P123

Авторами [88] отмечено, что при варьировании мольного соотношения  $n(\text{BuOH}):n(\text{P123})$  образуются кремнезёмы с гексагональной (типа SBA-15),

кубической (типа KIT-6) или неупорядоченной структурой. Для рассмотрения структурообразования неионогенного ПАВ методом динамического рассеяния света в настоящей работе определены размеры и дисперсность мицелл Pluronic P123 в присутствии бутанола-1. Основанием для выбора соотношения компонентов раствора (ПАВ–вода–бутанол-1) можно считать составы растворов Pluronic P123 в условиях золь-гель синтеза кремнезёмов.

На рис. 3.2 приведены зависимости среднего гидродинамического диаметра  $d_h$  частиц Pluronic P123 от температуры водных растворах и с добавками бутанола-1. Важно учитывать, что средний гидродинамический диаметр, полученный кумулятивным методом, близок к взвешенной по интенсивности величине размера частиц только для мономодальных распределений, поэтому позволяет оценить только первичные качественные изменения в системе [168]. Присутствие указанного алканола стабилизирует мицеллы при температурах ниже 20 °С [164]. При соотношении  $n(\text{BuOH}):n(\text{P123})=40:1$  стабилизация наблюдается и выше  $T=40$  °С. Начиная с  $T=35$  °С наблюдается рост  $d_h$  для составов  $n(\text{BuOH}):n(\text{P123})=80:1$  и  $60:1$  [173]. Как отмечено в работе [100], увеличение размера частиц может указывать на перестройку структуры мицелл из сферической формы в стержнеобразную (цилиндрическую) или характеризовать их агрегацию. Поскольку известно, что при синтезе мезопористых кремнезёмов в этих условиях формируются материалы с кубической симметрией [88], можно связать рост размера частиц с трансформациями структуры. При соотношении  $n(\text{BuOH}):n(\text{P123})=160:1$  (рис. 3.2) перегиб на кривой смещается в сторону низких температур, что может указывать на агрегацию или перестройку структур другого типа. Выявленные закономерности согласуются с литературными данными по синтезу упорядоченных кремнезёмов, аналогов SBA-15 и KIT-6. Ryoo с соавт. [88] отмечено, что при соотношениях бутанола-1 и сополимера меньше 60:1 образуются кремнезёмы с двумерной гексагональной структурой, как и в отсутствие бутанола-1. В этом случае не отмечено изменение размера частиц с ростом температуры (рис. 3.2, кривая 2) [164]. Ранее показано [88], что указанные мольные соотношения, превышающие 130:1, препятствуют формированию упорядоченных кремнезёмов.

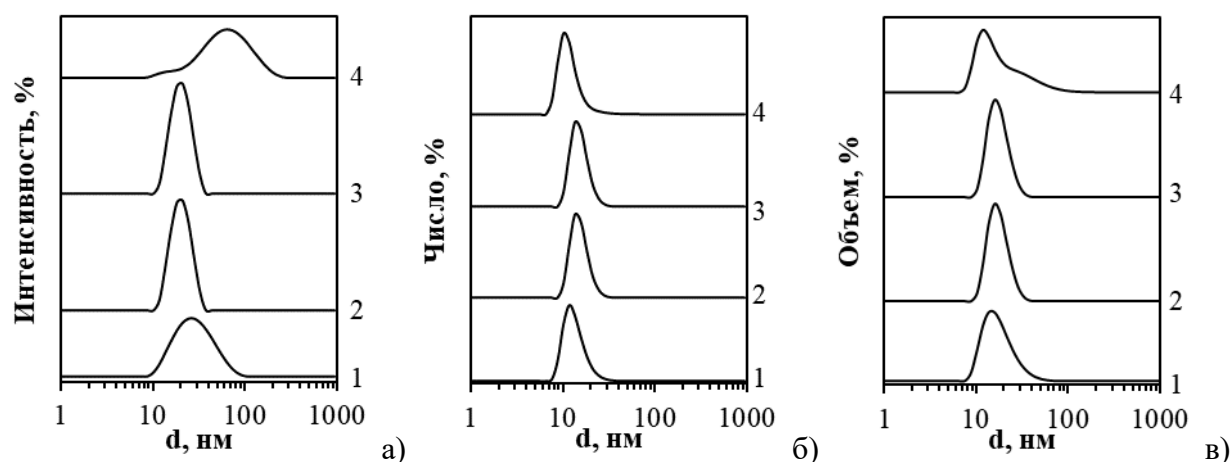
На кривой зависимости  $d_h$  от  $T$ , соответствующей составу  $n(\text{BuOH}):n(\text{P123})=160:1$ , отмечено резкое возрастание размера частиц, которое можно связать с агрегацией и разупорядочиванием наночастиц P123.



**Рис. 3.2.** Зависимость среднего гидродинамического диаметра от температуры при варьировании соотношения  $n(\text{BuOH}):n(\text{P123})$ :  
1 – 0; 2 – 40:1; 3 – 60:1; 4 – 80:1; 5 – 160:1 [164].

В работе [164] нами показано, что наиболее заметное влияние бутанола-1 на размер и дисперсность мицелл P123 наблюдается при 30 и 40-45 °C (рис. 3.3). При  $T=30$  °C распределение характеризуется меньшей дисперсией ( $PDI=0.03$ ) и средним размером  $d_h=20$  нм (кривая 3). Аналогичный вид зависимости получен при 40 °C без добавок алканола (кривая 2). Средний размер составляет  $d_h=21$  нм, а индекс полидисперсности  $PDI=0.03$ . В связи с этим предполагается формирование упорядоченных систем неионогенного P123 при температурах, близких к комнатной ( $T=25-30$  °C). Начиная с 35 °C при соотношении  $n(\text{BuOH}):n(\text{P123})=80:1$  рост размера частиц сопровождается появлением выраженной асимметрии пиков на кривых распределения частиц по размеру (кривая 4). Аналогичное бимодальное распределение интенсивности и увеличение размера мицелл Pluronic F127 в присутствии бутанола-1 при 40 °C отмечено в работе [100]. Необходимо принимать во внимание, что в системах с несферическими частицами на

корреляционной кривой возникает быстрое и медленное затухание, которые преобразуются в отдельные пики на кривой распределения [168].



**Рис. 3.3.** Распределение по размерам частиц Pluronic P123: 1, 2 – в водном растворе; 3, 4 – в присутствии бутанола-1 ( $n(\text{BuOH}):n(\text{P123})=80:1$ ): а) по интенсивности рассеяния; б) по числу частиц; в) по объему.  $T=30\text{ }^{\circ}\text{C}$  (1, 3) и  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  (2, 4) [164].

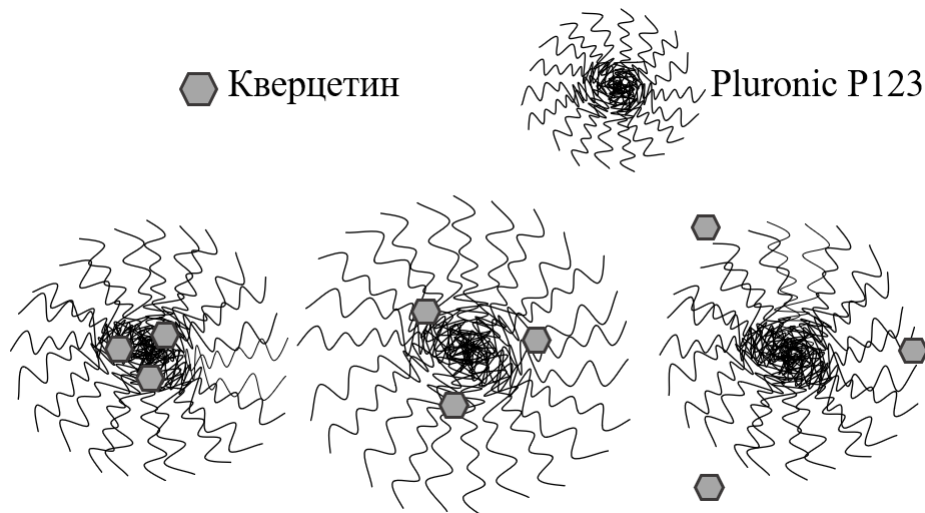
В целом по мере увеличения доли бутанола-1 в растворе его влияние в большей степени проявляется при температурах ниже  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Это согласуется с температурными закономерностями гидратации мицелл блоксополимера. При  $T>30\text{ }^{\circ}\text{C}$  происходит заметная дегидратация мицелл [171], сопровождающаяся уменьшением их размера. В присутствии бутанола-1, обладающего одновременно свойствами растворителя и поверхностно-активного вещества, дегидратация может сопровождаться замещением молекул воды на алканол. В свою очередь изменение структуры сольватной оболочки будет вызывать изменения морфологии наночастиц.

Таким образом, выявленные закономерности структурообразования блоксополимера Pluronic P123 в водном растворе при варьировании температуры указывают на важность учета особенностей формирования и трансформации мицелл в присутствии бутанола-1. Соответствие экспериментальных результатов ДРС литературным данным по синтезу кремнеземов в этих условиях позволяет

расширить возможности синтеза упорядоченных материалов с заданными воспроизводимыми свойствами.

### 3.1.3 Влияние этанола на мицеллообразование Pluronic P123

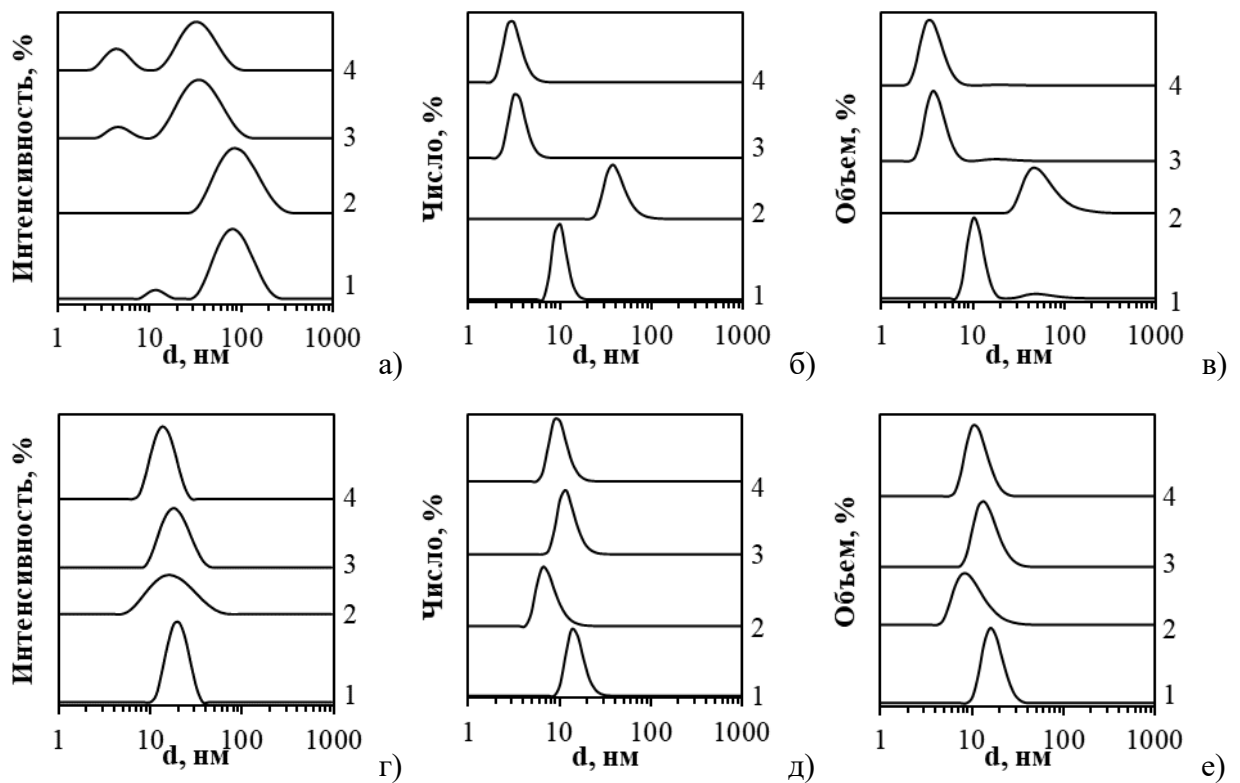
Важным вопросом при выборе условий золь-гель синтеза кремнезёмов с молекулярными отпечатками потенциальных аналитов является нахождение молекулы-темплата в различных частях мицелл (рис. 3.4), в том числе на поверхности в виде адсорбированной на "полярной голове" или с выходом на поверхность мицелл темплата только фрагмента молекулы (например, только кольца А или В). В настоящей работе рассматривали возможность изменения локализации молекулы кверцетина относительно мицелл ПАВ за счет варьирования состава водно-этанольного растворителя.



**Рис. 3.4.** Возможная локализация молекул кверцетина относительно мицелл блоксополимера Pluronic P123.

На рис. 3.5 приведены кривые распределения частиц Pluronic P123 по размерам. Наблюдается два пика в диапазоне 3-10 нм и 10-200 нм, соответственно (рис. 3.5 а). Пик 1 можно интерпретировать как наличие в растворе отдельных макромолекул, а пик 2 – их агрегатов. Значительная интенсивность пика 1 указывает на повышение доли индивидуальных молекул блоксополимера

в растворе при 20 °С. Стоит отметить, что при более высоких температурах ( $T > 25^\circ\text{C}$ ) распределение становится мономодальным. На рис. 3.5 *г-е* приведены зависимости, полученные при  $T = 40^\circ\text{C}$ . Можно отметить с ростом температуры смещение распределения частиц в сторону больших размеров  $d_h$ , относительно соответствующего распределения для водного раствора. В случае  $n(\text{EtOH}):n(\text{P123}) = 80:1$  указанный эффект сопровождается уширением пика. Бимодальное распределение в присутствии этанола при низких температурах и аналогичная характеристика кривых распределения частиц по размерам ранее получена также авторами [174] для водных растворов Pluronic F127.



**Рис. 3.5.** Распределение по размерам частиц Pluronic P123 при варьировании состава растворителя: 1 – без добавок этанола; 2 –  $n(\text{EtOH}):n(\text{P123}) = 80:1$ ; 3 –  $n(\text{EtOH}):n(\text{P123}) = 160:1$ ; 4 –  $n(\text{EtOH}):n(\text{P123}) = 370:1$ : а) по интенсивности рассеяния; б) по числу частиц; в) по объему.  $T = 20^\circ\text{C}$  (а-в) и  $40^\circ\text{C}$  (г-е) [164].

Можно полагать, что эффект влияния спиртов на структуру блоксополимеров определяется длиной углеводородного радикала алканола, а интервал температур для трансформации морфологии мицелл в значительной мере зависит от размера гидрофобной и гидрофильной частей ПАВ (в том числе с учетом сольватации).

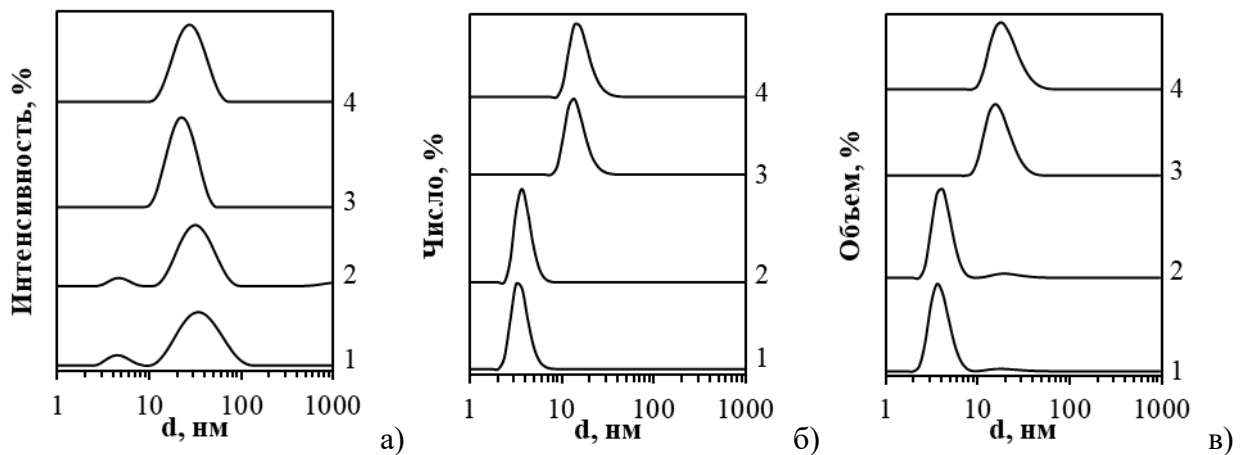
### 3.1.4 Размер и дисперсность мицелл Pluronic P123 в присутствии кверцетина

Как показано в работе [158], кверцетин локализуется преимущественно в гидрофобном ядре блоксополимеров PEO-PPO-PEO. Авторами работы [175] на примере гликозида кверцетина – рутина – показано, что расположение молекул добавок органических веществ в мицеллах зависит от состава растворителя и изменяется при добавлении этанола в водный раствор. Изучение структурообразования Pluronic P123 в растворах в присутствии добавок проводили на примере полифенольного вещества кверцетина. Поскольку, как отмечено выше, наиболее однородная мицеллярная структура Pluronic P123 формируется при 40 °С, влияние кверцетина рассматривали сначала при этой температуре. В водной среде средний диаметр мицелл неионогенного ПАВ составляет 20 нм и сохраняется при солубилизации кверцетина при мольном соотношении  $n(\text{Quer}):n(\text{P123})=0.24:1$ .

Можно полагать, что добавка этанола позволит изменить распределение молекул кверцетина между мицеллами и растворителем, что может быть использовано для получения сорбентов с высокой селективностью [176]. Влияние этанола и кверцетина на структурообразование триблоксополимера изучено при варьировании температуры и мольных соотношений  $n(\text{P123}):n(\text{EtOH}):n(\text{Quer})=1:x:y$ , где  $x=0, 80, 160, 250, 370$ ,  $y=0, 0.24, 0.72, 0.144$ . Наибольший интерес представляют температуры 20 и 40 °С. В первом случае наблюдается наиболее заметное влияние добавок на структурообразование блоксополимера. Повышение температуры до 40 °С способствует формированию наночастиц с минимальной дисперсностью [176].

Как уже отмечалось выше, добавка этанола приводит к частичному разрушению мицелл. Однако в присутствии гидрофобных биологически активных веществ их солубилизация в смешанном растворителе может повышаться, поскольку сольватация всех блоков сополимера приводит к возрастанию межфазной площади поверхности [177]. При 20 °С можно проследить, что флавоноид снижает критическую температуру мицеллообразования

триблоксополимера в водно-этанольной среде. На рис. 3.6 приведены кривые распределения интенсивности по размерам в присутствии флавоноида. По мере возрастания концентрации кверцетина в водно-этанольном растворе ПАВ снижается площадь пика, соответствующего свободным макромолекулам (с размером менее 10 нм). Очевидно, что содержание спирта и полифенола являются двумя факторами, оказывающими влияние на структуру и полимодальность мицелл ПАВ. Эффект этих добавок является разнонаправленным: этанол приводит к частичному разрушению мицелл, в то время как кверцетин проявляет структурирующее действие по отношению к блоксополимеру. Способность гидрофобных веществ к снижению температуры и концентрации мицеллообразования неионогенных ПАВ отмечалась в работах [174, 175]. Авторы [178] объясняют это образованием комплексов флавоноида со свободными молекулами ПАВ, которые впоследствии организуются в мицеллы. Можно полагать, что отмеченный эффект кверцетина на структурообразование Pluronic P123 характерен и для других полифенолов и блоксополимеров.



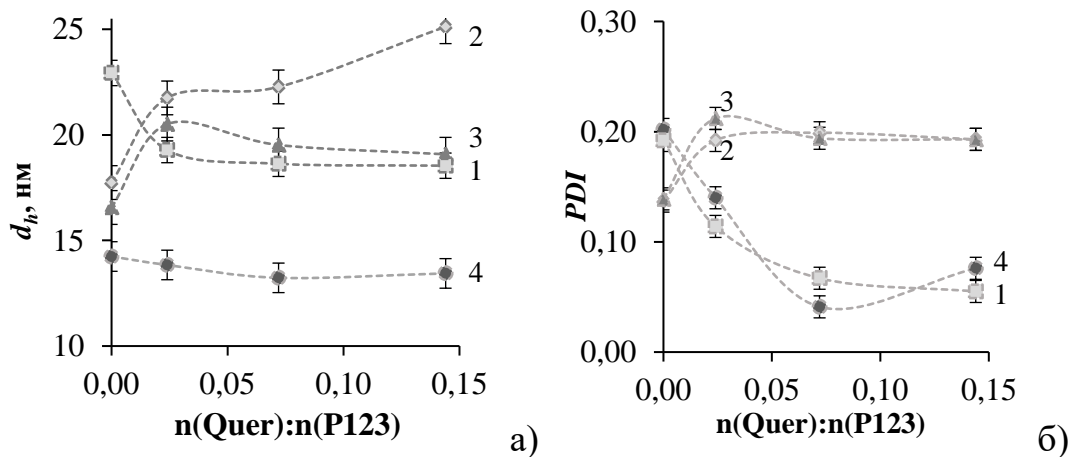
**Рис. 3.6.** Распределение по размерам частиц Pluronic P123 при варьировании соотношения  $n(\text{Quer}):n(\text{P123})$ : 1 – 0; 2 – 0.024; 3 – 0.072; 4 – 0.144:

а) по интенсивности рассеяния; б) по числу частиц; в) по объему.  $T=20^\circ\text{C}$ ,  $n(\text{EtOH}):n(\text{P123}) = 160:1$  [164].

При более высоких температурах в зависимости от содержания соразтворителя и полифенола в растворе можно проследить изменение их роли в структурообразовании неионогенного ПАВ. Мономодальность распределения при

40 °С позволяет использовать для характеристики системы средний гидродинамический диаметр ( $d_h$ ). Как показано выше, влияние этанола при  $T=40$  °С состоит в увеличении размера от  $d_h=20$  нм до 23 нм (при соотношении  $n(\text{EtOH}):n(\text{P123})=80:1$ ) и уменьшении до 14-18 нм при остальных составах раствора (от  $n(\text{EtOH}):n(\text{P123})=160:1$  до  $n(\text{EtOH}):n(\text{P123})=370:1$ ). В присутствии кверцетина изменение размера  $d_h$  и индекса полидисперсности  $PDI$  мицелл блоксополимера немонотонно при варьировании состава растворителя (рис. 3.7).

Величина среднего гидродинамического диаметра может быть использована только для первичной оценки качественных изменений в исследуемой системе. Дополнительный вклад в погрешность определения возникает при анализе многокомпонентных растворов в смешанных растворителях [168]. Для определения истинного размера мицелл в исследуемой системе необходимо привлечение других методов, что не входило в задачи работы. Однако анализ величин  $d_h$  позволяет выявить состав растворителя, при котором проявляется наиболее заметное влияние флавоноида на свойства наночастиц полимерного ПАВ.



**Рис. 3.7.** Зависимость среднего гидродинамического диаметра (а) и индекса полидисперсности (б) Pluronic P123 от  $n(\text{Quer}):n(\text{P123})$  при варьировании состава растворителя: 1 –  $n(\text{EtOH}):n(\text{P123})=80:1$ ; 2 –  $n(\text{EtOH}):n(\text{P123})=160:1$ ; 3 –  $n(\text{EtOH}):n(\text{P123})=250:1$ ; 4 –  $n(\text{EtOH}):n(\text{P123})=370:1$ .  $T=40$  °С [164].

Солюбилизация кверцетина в водном растворе ПАВ не приводит к росту размера мицелл последних, а увеличение размера наночастиц может быть вызвано

особенностями сольватации молекул флавоноида [179]. При минимальном из указанных содержаний этанола в растворе ( $n(\text{EtOH}):n(\text{P123})=80:1$ ) его заметное влияние нивелируется присутствием кверцетина, поскольку  $d_h$  снижается от 23 нм до 19 нм независимо от концентрации полифенола. В присутствии кверцетина с ростом содержания этанола проявляется их синергизм. При добавлении флавоноида к водно-этанольному раствору ПАВ (соотношения  $n(\text{EtOH}):n(\text{P123})=160:1$  и  $250:1$ ) наблюдается увеличение размера мицелл. При дальнейшем увеличении соотношения  $n(\text{EtOH}):n(\text{P123})$  до  $370:1$  влияние кверцетина нивелируется. Размер частиц ПАВ при этом составляет 14 нм независимо от концентрации флавоноида. Данный факт указывает на первостепенное влияние этанола как растворителя на структуру мицелл, их размер и полидисперсность. Также это может быть связано с повышением растворимости кверцетина в фазе раствора за счет снижения полярности растворителя [178].

Размер и дисперсность частиц в исследуемой системе позволяет предполагать возможную локализацию молекулы кверцетина относительно гидрофильных и гидрофобных участков мицелл блоксополимера. Участие флавоноида в структурообразовании ПАВ подтверждается снижением температур, при которых формируются мицеллы с минимальной дисперсностью. Можно полагать, что наиболее благоприятным, в том числе для формирования молекулярных отпечатков при синтезе упорядоченных кремнеземов с использованием неионогенных ПАВ, является состав растворителя, при котором наблюдается наиболее заметное влияние кверцетина. Он отвечает мольному соотношению этанола и блоксополимера  $n(\text{EtOH}):n(\text{P123})=80:1$ . Это позволит отказаться от использования при золь-гель синтезе кремнеземов реагентов, которые, с одной стороны, способствуют связыванию поверхностных силанольных групп с молекулами аналитов, а с другой – могут снижать упорядоченность формирующихся структур.

## 3.2 Структурные и поверхностные свойства синтезированных кремнезёмов

### 3.2.1 Характеристика кремнезёмов по данным ИК-спектроскопии

Метод ИК-спектроскопии, как метод структурно-группового анализа, часто используется для рассмотрения на качественном уровне природы и количества сорбционных центров, а также гидратации сорбентов [180]. В настоящей работе рассматривали особенности получения матриц упорядоченных кремнезёмов при варьировании прекурсора (тетраэтоксисилан и коллоидный раствор оксида кремния Ludox-HS-40), состава растворителя (добавки этанола и бутанола-1), а также в присутствии потенциальных аналитов (кверцетина и дигидрокверцетина). Гидратацию и удельную плотность поверхностных силанольных групп сравнивали по интенсивности спектральных полос при соответствующих волновых числах (таблица 3.2) после обработки спектров методом нормировки (раздел 2.2.4).

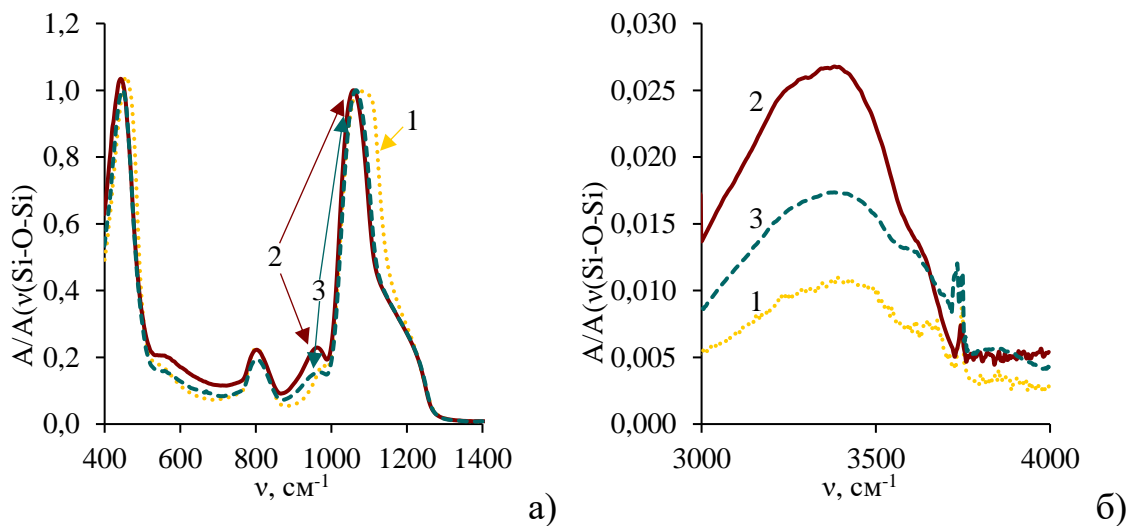
Таблица. 3.2

Основные характеристические полосы поглощения ИК-излучения кремнеземами [180]

Волновое число, $\text{см}^{-1}$	Тип колебаний
460-795	$\gamma$ деформационные Si-O-Si
970	$\gamma$ деформационные OH-групп адсорбированной воды, связанной с Si-OH валентные $\nu$ Si – O в гидратированных Si-OH
1060-1200	асимметричные валентные $\nu$ Si-O-Si
1640	$\delta$ деформационные OH в $\text{H}_2\text{O}$
3000-3500	валентные $\nu$ O – H в Si-OH, связанные водородными связями, валентные $\nu$ O – H адсорбированной воды
3600-3650	валентные $\nu$ O – H в вицинальных Si-OH
3740-3750	валентные $\nu$ O – H в свободных Si-OH

*Влияние прекурсора.* Ранее в работе [180] отмечено, что инфракрасный спектр аморфного и кристаллического диоксида кремния, характеризуются идентичным набором спектральных полос (460, 800 и 1075  $\text{см}^{-1}$ ). В области волновых чисел 1000-1300  $\text{см}^{-1}$ , спектральный максимум относят валентным колебаниям связи

Si-O в тетраэдрической структуре матрицы кремнезема. Полосы поглощения при 1060 и 1230  $\text{см}^{-1}$  могут быть отнесены к асимметричным валентным колебаниям групп Si-O-Si [180]. Сдвиги можно трактовать перекрытием полос валентных колебаний Si-O с интеркаляцией полисилоксанов, которые проявляются в ИК-спектрах в области 1105  $\text{см}^{-1}$  [180]. В работе [171] нами показано, что для материалов с неупорядоченной структурой тетраэдрической матрицы кремнезема максимум полосы наблюдается при больших волновых числах, а для наноструктурированной матрицы смещается в область меньших волновых чисел (до 1060-1080  $\text{см}^{-1}$ ). Как видно на рис. 3.8, синтезированные материалы характеризуются упорядоченной структурой, поскольку максимум полосы валентных колебаний Si-O-Si расположен при волновом числе 1060  $\text{см}^{-1}$ .



**Рис. 3.8.** ИК-спектры кремнезёмов в области колебаний, соответствующих матрице  $\text{SiO}_2$  (а) и в области колебаний  $\text{SiOH}$  и адсорбированной воды (б):

1 – неупорядоченный, 2 – MS-T (аналог SBA-15, синтезированный из тетраэтоксисилана), 3 – MS1 (аналог SBA-15, синтезированный с использованием коллоидного раствора оксида кремния).

В качестве прекурсора при синтезе мезопористых кремнезёмов обычно используется тетраэтоксисилан (ТЭОС) [75]. В работе [171] нами отмечено, что аналоги SBA-15, синтезированные на основе ТЭОС, позволяют извлекать из растворов неполярные вещества, такие как  $\alpha$ -токоферол и  $\beta$ -каротин. Для относительно полярных флавоноидов сорбция выражена в меньшей степени вследствие конкурентной адсорбции растворителя на поверхности твердофазных

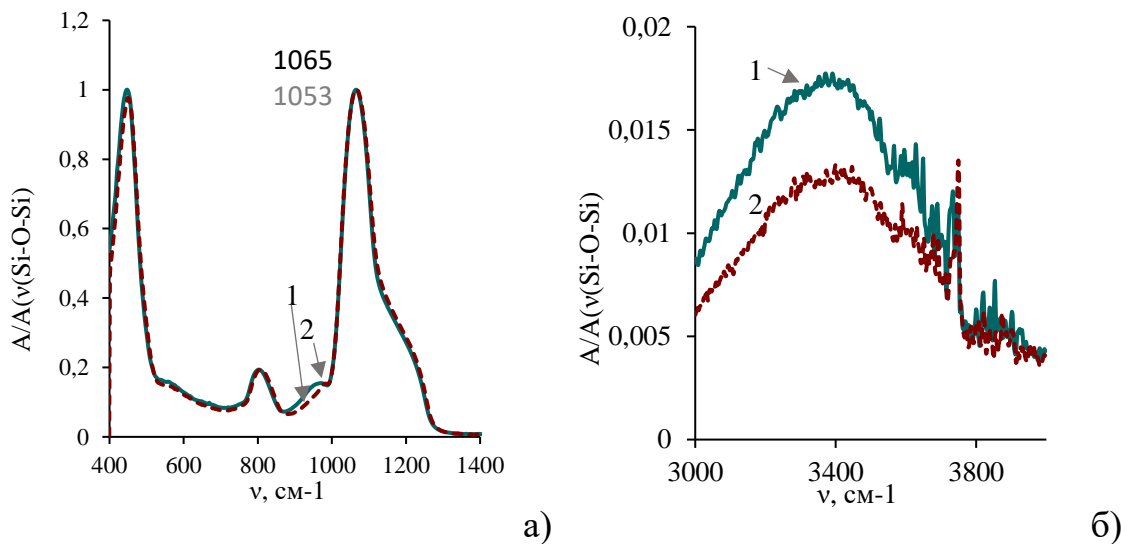
материалов. Сродство материалов к молекулам аналитов может значительно меняться при варьировании структуры, типа и распределения сорбционных центров (силанольных групп) на внешней и внутренней поверхности кремнеземов. Для выбора условий выделения и очистки целевых компонентов важен учет характеристик сорбентов.

В настоящей работе рассматривали изменение структурных и поверхностных свойств наноструктурированных материалов при использовании в качестве прекурсора тетраэтоксисилана (образец MS-T) и коллоидного раствора оксида кремния (серия MS). Как видно на рис. 3.8, при синтезе сорбентов, аналогов SBA-15 из обоих прекурсоров образуется упорядоченная структура, на что указывает положение и профиль полосы валентных колебаний Si-O-Si ( $1060\text{ см}^{-1}$ ).

Для образца MS-T характерна относительно высокая гидратация, что осложняет извлечение флавоноидов из органических растворителей (как с гидроксильными группами в своей структуре, так и содержащих примеси воды). Дальнейшее варьирование свойств кремнеземов рассматривали при синтезе на основе коллоидного раствора оксида кремния. Профиль полосы на ИК-спектре образца MS1 в интервале волновых чисел  $3600\text{--}3650\text{ см}^{-1}$  может быть интерпретирован как присутствие вицинальных групп на поверхности кремнезема. Это не характерно для аналога SBA-15, синтезированного с использованием ТЭОС. Для аналога SBA-15 наряду с пиком  $3750\text{ см}^{-1}$  присутствует полоса  $3732\text{ см}^{-1}$  (рис. 3.8, кривая 3), что указывает на изменение окружения силанольных групп (в том числе наличие вицинальных и геминальных групп) [171].

*Влияние добавок бутанола-1.* Добавки бутанола-1, как отмечено в работе [88], приводят к получению кремнезема с кубической структурой – аналога KIT-6. При синтезе в присутствии алканола наблюдается сохранение упорядоченной матрицы SiO<sub>2</sub> (узкая полоса с максимумом при волновом числе  $1060\text{ см}^{-1}$ ). Можно отметить изменение гидратации материала, на что указывает уменьшение интенсивности пиков в области  $3000\text{--}3500\text{ см}^{-1}$  (рис. 3.9). Снижение гидратации образца MK1 (аналог KIT-6) по сравнению с MS1 (аналогом SBA-15) также подтверждается смещением пика деформационных колебаний OH-групп от  $970$  до

984  $\text{cm}^{-1}$ , который относят к колебаниям связи Si-O в силанольных группах, гидратированных молекулами воды (табл. 3.2). Для образца МК1 стоит отметить увеличение интенсивности пика 3750  $\text{cm}^{-1}$ , соответствующего валентным колебаниям свободных силанольных групп на поверхности пор, т. е. не участвующих в сольватации и образовании водородных связей.

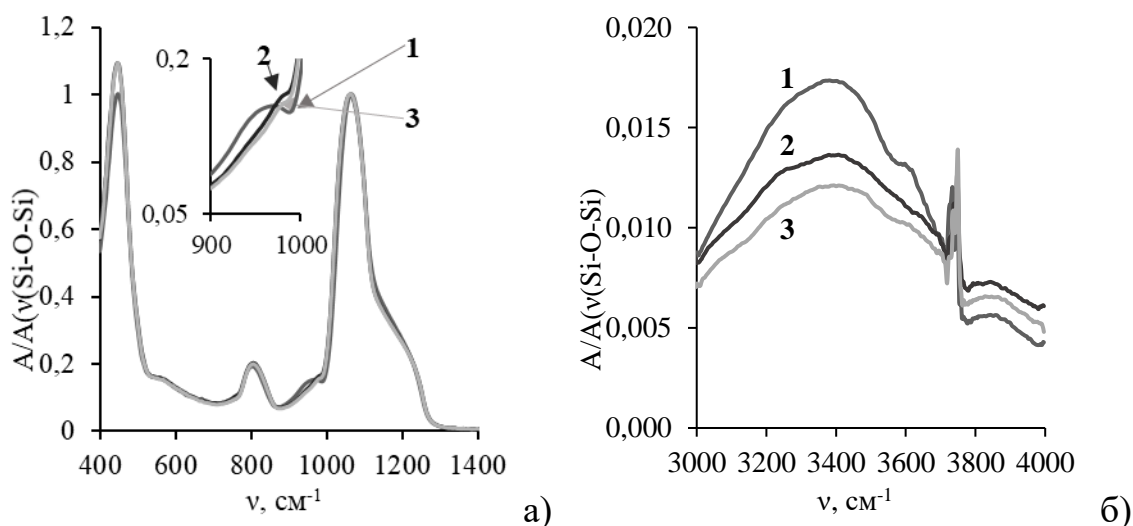


**Рис. 3.9.** ИК-спектры кремнезёмов в области колебаний, соответствующих матрице  $\text{SiO}_2$  (а) и в области колебаний  $\text{SiOH}$  и адсорбированной воды (б): 1 – MS1, 2 – МК1.

*Влияние добавок потенциальных аналитов.* Классический подход получения материалов с молекулярными отпечатками потенциальных аналитов проводится с использованием ковалентно-связывающего компонента (например, аминопропилтриэтоксисилана), который обычно является высокотоксичным и дорогостоящим реагентом. Способность полифенолов к взаимодействию с мицеллами темплата в условиях синтеза мезопористых кремнезёмов позволяет отказаться от использования вспомогательных компонентов реакционной среды. Выбор условий синтеза кремнезёмов с добавками полифенолов проводили с учетом структурообразования шаблона (раздел 3.1.4). Получали материалы в присутствии кверцетина и дигидрокверцетина при варьировании количества этанола в реакционной смеси.

Можно отметить, что синтез материалов с добавками кверцетина приводит к варьированию свойств кремнезёма, что обусловлено как различным количеством

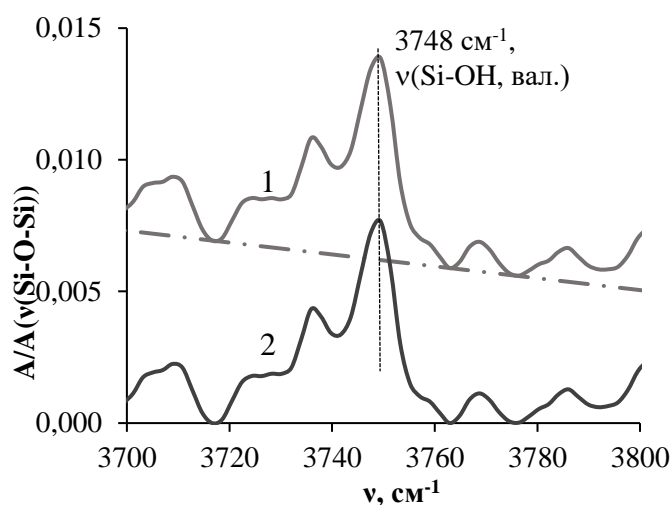
соразворителя (этанола), так и наличия полифенольного компонента в реакционной системе. Наиболее существенные изменения в спектрах кремнезёмов, синтезированных в присутствии кверцетина и дигидрокверцетина, связаны с варьированием гидратации (сольватации) (рис. 3.10). Присутствие этанола в различных содержаниях приводит к нелинейному изменению сольватации, проходя через минимум при соотношении в  $n(\text{SiO}_2):n(\text{EtOH})=1.0:1.3$  в реакционной среде. Отмеченный эффект подтверждается изменением интенсивности полос валентных колебаний растворителя в области  $3000\text{-}3700\text{ см}^{-1}$ . Изменение характера сольватации подтверждается смещением пика  $970\text{ см}^{-1}$  в область больших волновых чисел до  $980\text{ см}^{-1}$  (колебания связи Si-O в Si-OH).



**Рис. 3.10.** ИК-спектры кремнезёмов в области колебаний, соответствующих матрице  $\text{SiO}_2$  (а) и в области колебаний SiOH и адсорбированной воды (б): 1 – MS1, 2 – MQS0, 3 – MQS1.

Наиболее интересна закономерность изменения количества свободных силанольных групп (полоса валентных колебаний  $\nu$  SiOH при волновом числе ок.  $3750\text{ см}^{-1}$ ). Близость интенсивностей перекрывающихся полос в этой области затрудняет анализ полученных данных по исходным спектрам поглощения. Для оценки количества свободных силанольных групп использовали метод базисной линии (рис. 3.11). Можно отметить, что в присутствии кверцетина варьирование количества этанола в реакционной смеси позволяет контролировать количество

сорбционных центров на поверхности мезопор (рис. 3.12). При мольном соотношении  $n(\text{EtOH}):n(\text{SiO}_2)=0.3:1$  отмечена максимальная интенсивность полосы  $3748 \text{ см}^{-1}$ , соответствующей валентным колебаниям свободных силанольных групп. Аналогично кверцетину, присутствие дигидроккверцетина в реакционной смеси с мольным соотношением  $n(\text{EtOH}):n(\text{SiO}_2)=0.3:1$  приводит к увеличению количества свободных силанольных групп, снижая гидратацию кремнезема.



**Рис. 3.11.** Пример обработки ИК-спектра кремнезёмов в области колебаний свободных силанольных групп методом базисной линии (образец MQS1): 1 – исходный спектр, 2 – после обработки.



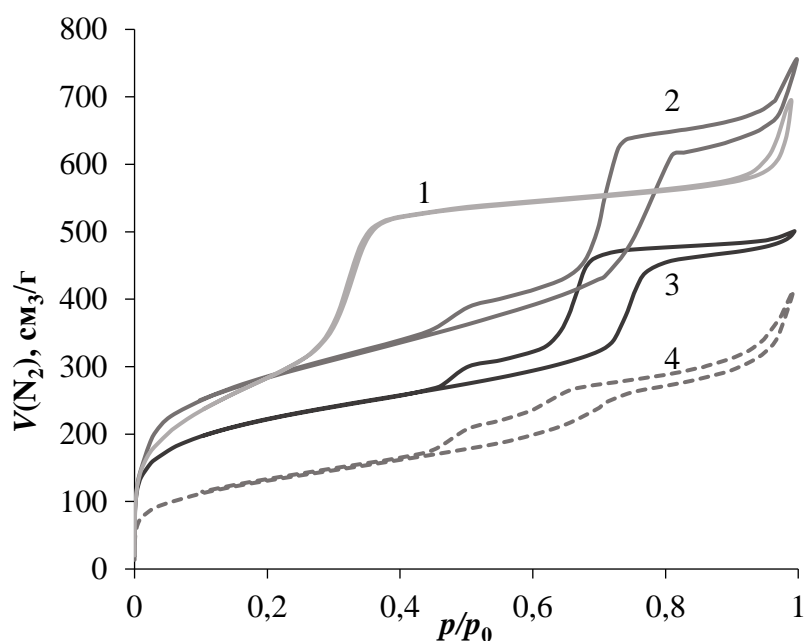
**Рис. 3.12** Оптическая плотность кремнезёмов при волновых числах, соответствующих колебаниям гидратной воды,  $\nu=3400 \text{ см}^{-1}$  (сплошные столбцы); свободных силанольных групп,  $\nu=3748 \text{ см}^{-1}$  (заштрихованные столбцы).

Важно отметить, что при синтезе кремнеземов с использованием в качестве темплата бромида цетилтриметиламмония [181] при варьировании количества этанола в присутствии кверцетина гидратация и удельная плотность свободных силанольных групп на поверхности твердофазных материалов оставались постоянными. Изменения наблюдались при варьировании этанола только без добавок полифенола. Можно полагать, что при переходе к неионогенному темплату (блоксополимеру Pluronic P123) в процессе золь-гель синтеза кремнеземов происходят более сложные процессы, что требует учета множества факторов в процессе синтеза.

Таким образом, при варьировании условий синтеза (природы прекурсора, добавок сорастворителей и полифенолов) сохраняется упорядоченная структура кремнеземов. При этом отмечены изменения количества и природы силанольных групп, гидратации, что позволит контролировать сорбционные свойства с учетом природы аналитов. В условиях синтеза с использованием в качестве прекурсора тетраэтоксисилана образуются материалы с высокой гидратацией и малой плотностью свободных силанольных групп. При переходе к синтезу с использованием коллоидного раствора оксида кремния для аналога SBA-15 отмечено существенное увеличение свободных и вицинальных силанольных групп. Количество свободных силанольных групп максимально при переходе от гексагональной структуры кремнеземов (аналоги SBA-15) к кубической (аналоги KIT-6). В то же время для аналогов SBA-15 достигается рост числа сорбционных центров при синтезе кремнеземов в присутствии потенциальных аналитов (кверцетина и дигидрокверцетина) и мольном соотношении  $n(\text{SiO}_2) : n(\text{EtOH}) = 1.0 : 0.3$ . Это позволит повысить сорбционную емкость синтезированных твердофазных материалов по отношению к целевым компонентам. Для упорядоченных сорбентов в этом случае можно ожидать увеличения эффективности динамического сорбционного концентрирования веществ, что будет рассмотрено в главе 4.

### 3.2.2 Характеристика кремнезёмов по данным низкотемпературной адсорбции/десорбции азота

Метод низкотемпературной адсорбции/десорбции азота отличается высокой информативностью, поэтому широко используется, в том числе при характеристике упорядоченных мезопористых кремнезёмов [153]. Из полученной изотермы можно рассчитать площадь поверхности образца, диаметр, объем пор, и другие характеристики. Вид изотермы адсорбции определяется общими и специфическими взаимодействиями адсорбат-адсорбент и позволяет качественно охарактеризовать исследуемый материал. Вид полученных изотерм адсорбции/десорбции азота синтезированными кремнезёмами (рис. 3.13) подтверждает формирование упорядоченной мезопористой матрицы силиката. Кремнезёмы, аналоги MCM-41, синтезированные с использованием в качестве темплата бромиды цетилтриметиламмония, характеризуются средним диаметром мезопор 3.1-3.4 нм (табл. 3.3). Полимерный шаблон Pluronic P123 позволяет получать упорядоченные материалы (аналоги SBA-15 и KIT-6) с более широкими мезопорами (6.8-7.8 нм), что важно при сорбционном разделении и концентрировании полифенольных веществ.



**Рис. 3.13.** Изотермы низкотемпературной адсорбции/десорбции азота кремнезёмами: 1 – МС1, 2 – МS1, 3 – МS-T, 4 – МК1.

Удельная площадь поверхности и размер пор синтезированных кремнезёмов

Кремнезём	$S_{уд}$ , м <sup>2</sup> /г*	$d_p$ , нм**
SA	220	12.0
MC-T	1030	3.1
MC1	760	3.4
MS-T	730	6.8
MS1	950	7.8
MK1	680	7.2

\* $S_{уд}$  – площадь поверхности кремнезёмов, рассчитанная с использованием модели Брунауэра-Эммета-Теллера (BET: S. Brunauer, P. H. Emmet, E. Teller).

\*\* $d_p$ , нм – средний диаметр пор, рассчитанный по адсорбционной ветви изотермы с использованием модели Барретта-Джойнера-Халенда (BJH: E.P. Barrett, L.G. Joyner, P.P.J. Halenda).

Обозначения сорбентов: SA – неупорядоченный материал, MC-T – аналог MCM-41, синтезированный из тетраэтоксисилана, MC1 – аналог MCM-41, синтезирован из Ludox-HS-40, MS-T – аналог SBA-15, синтезирован из тетраэтоксисилана, MS1 – аналог SBA-15, синтезирован из Ludox-HS-40, K1 – аналог KIT-6, синтезирован из Ludox-HS-40.

### Заключение к главе 3

Рассмотрены особенности структурообразования блоксополимера Pluronic P123, использующегося как темплат при синтезе упорядоченных мезопористых кремнезёмов (аналогов KIT-6 и SBA-15). Отмечено существенное влияние температуры, состава растворителя, добавок кверцетина на размер и дисперсность мицелл неионогенного ПАВ. Показано, что в водных растворах мицеллы с узким распределением по размерам (минимальным индексом полидисперсности) формируются в интервалах температур 21-25 и 35-40 °С.

Показано, что бутанол-1 приводит к стабилизации мицелл блоксополимера при температурах 15-20 °С. В рассмотренном интервале содержаний алканола (n(BuOH):n(P123) от 60:1 до 160:1) при  $T > 30^\circ\text{C}$  происходит перестройка структуры или агрегация частиц Pluronic P123. С ростом содержания бутанола-1 его разупорядочивающее влияние на структуру мицелл проявляется при более низких температурах (27-40 °С). Полученные данные согласуются с условиями синтеза

кремнезема с кубической структурой типа КИТ-6 (температура 35-40 °С,  $n(\text{BuOH}):n(\text{P123})=80:1$ ).

Варьируя состав растворителя, за счет изменения сольватации, можно контролировать связывание флавоноида с мицеллой и его положение в объеме или на поверхности мицелл P123. При  $T=40$  °С отмечается синергизм влияния кверцетина и этанола на размер и дисперсность мицелл блоксополимера. Структурирующее действие кверцетина по отношению к неионогенному ПАВ позволяет проводить синтез кремнезёмов с молекулярными отпечатками флавоноидов без использования ковалентно-связывающих компонентов. С учетом условий формирования мезофаз блоксополимера Pluronic P123 с минимальным индексом полидисперсности проведен золь-гель синтез наноструктурированных кремнезёмов. Показана возможность варьирования структуры, природы и плотности сорбционных центров твердофазных материалов для последующего рассмотрения свойств в процессах сорбционного разделения и концентрирования полифенольных веществ.

По данным ИК-спектроскопии, при синтезе в реакционной среде состава, при котором наблюдается наиболее заметное структурирующее влияние полифенола на свойства мицелл блоксополимера, достигается увеличение плотности свободных силанольных групп на поверхности кремнезёмов. С одной стороны, это позволило достичь более высокой сорбционной емкости по отношению к кверцетину. Однако увеличение числа сорбционных центров может осложнять десорбцию аналитов, что характерно для аморфных силикагелей. Также стоит учитывать, что изменение числа свободных силанольных групп может приводить к увеличению сродства не только к флавоноидам, но и к другим веществам, в том числе не содержащих полифенольный фрагмент в структуре. Селективность аналогов SBA-15, полученных в присутствии кверцетина, а также возможность десорбции аналитов минимальными объемами растворителя будут рассмотрены в следующих разделах.

#### **Глава 4. Упорядоченные мезопористые кремнеземы при сорбционном извлечении флавоноидов из индивидуальных растворов**

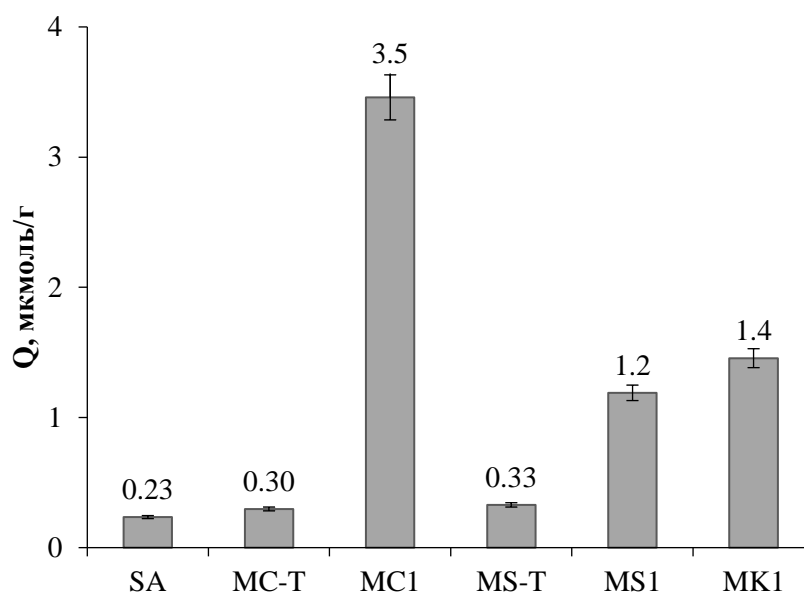
Современные варианты пробоподготовки при выделении, концентрировании и разделении близких по физико-химическим свойствам биологически активных веществ предполагают реализацию сорбционных процессов как в статических, так и динамических условиях. Для решения задач, связанных с развитием подходов к пробоподготовке, особое внимание уделяется поиску эффективных сорбентов. Ранее отмечены преимущества наноструктурированных материалов по сравнению с традиционными силикагелями и полимерными сорбентами в динамическом сорбционном концентрировании веществ разной полярности [125, 192]. Продемонстрировано существенное увеличение эффективности сорбционного концентрирования фосфадитилхолина и некоторых флавоноидов на аналогах МСМ-41, в том числе модифицированных органическими функциональными группами. Остается недостаточно рассмотренным влияние размера пор, типа структуры, количества сорбционных центров на поверхности мезопор кремнеземов на особенности сорбционного извлечения полифенольных соединений из растворов.

В настоящем разделе обсуждается сорбция флавоноидов из индивидуальных ацетонитрильных растворов на кремнеземах разной структуры и упорядоченности (аналоги МСМ-41, SBA-15, KIT-6). Особое внимание уделено динамическому сорбционному концентрированию полифенолов на сорбентах, аналогах SBA-15, для которых можно ожидать улучшение кинетических параметров сорбции аналитов за счет относительно широкого размера мезопор. Проведена оценка эффективности сорбционного концентрирования с учетом равновесного (коэффициент распределения) и кинетического (коэффициент диффузии) параметров сорбции. Рассмотрена десорбция флавоноидов из слоя сорбента растворителями различной полярности и элюирующей способности для более полного разделения аналитов и их последующего определения.

## 4.1 Сорбционное извлечение кверцетина из ацетонитрильных растворов упорядоченными кремнеземами в статических условиях

### 4.1.1 Сорбция кверцетина на кремнеземах разной структуры и упорядоченности

Известно, что упорядоченная структура за счет большей доступности сорбционных центров позволяет достигать более высоких степеней извлечения флавоноидов. При этом варьирование типа структуры кремнезема сопровождается существенным изменением распределения и удельной плотности силанольных групп на внешней и внутренней поверхности, их сольватации, и, как следствие, сорбционных свойств твердофазного материала в целом. Природа прекурсора в значительной степени определяет механизм формирования наноструктурированной матрицы. Анализ величин равновесной сорбционной емкости кверцетина кремнеземами, синтезированными из тетраэтоксисилана (образцы MC-T и MS-T), демонстрирует невысокую сорбционную емкость  $Q$  по отношению к кверцетину (рис 4.1) [182]. По литературным данным [36] известно, что увеличение удельной площади поверхности может приводить к возрастанию сорбционной емкости. Однако различия в удельной площади поверхности синтезированных кремнезёмов не отражаются на сорбционных свойствах по отношению к рассматриваемому флавоноиду. Наряду с удельной площадью поверхности на сорбцию полифенольных веществ могут оказывать влияние природа сорбционных центров, которая определяется в том числе прекурсором силиката [182]. Для материалов MC-T и MS-T в большей степени выражена блокировка сорбционных центров молекулами растворителя, что отмечено по виду ИК-спектров (раздел 3.2.1). Сорбент, аналог SBA-15, синтезированный из тетраэтоксисилана, характеризуется меньшей удельной плотностью свободных силанольных групп вместе с более высокой гидратацией по сравнению с кремнеземами, полученными из коллоидного раствора  $\text{SiO}_2$  (раздел 3.2.1).



**Рис. 4.1.** Равновесная сорбционная емкость при сорбции кверцетина из ацетонитрильных растворов ( $c=0.14$  мМ) кремнеземами разной структуры и упорядоченности. SA – неупорядоченный кремнезем.  $c=0.14$  мМ,  $m=0.1000$  г,  $V=10.00$  см<sup>3</sup>.

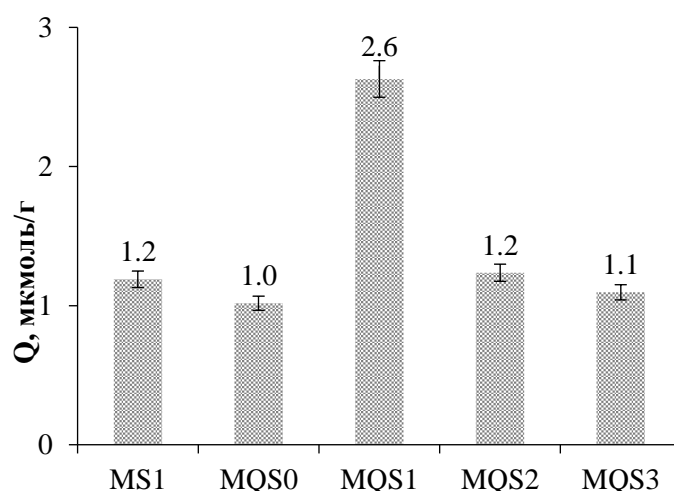
При переходе к кремнеземам, полученным из коллоидного раствора оксида кремния, наблюдается увеличение сродства сорбентов к полифенолу. Величина сорбционной емкости уменьшается в ряду кремнеземов – аналогов MCM-41>KIT-6>SBA-15. Для кремнезема MS1 отмечено минимальное количество свободных силанольных групп и максимальная гидратация по данным ИК-спектроскопии (раздел 3.2.1), что приводит к снижению степени извлечения флавоноида из растворов. Кремнеземы MC1 и MK1 характеризуются близостью природы и количества сорбционных центров. Для аналогов MCM-41 отмечается более высокоразвитая внешняя поверхность [181], что указывает на важность доступности сорбционных центров для аналитов.

#### 4.1.2 Сорбция кверцетина на кремнеземах с молекулярными отпечатками потенциальных аналитов

Способность полифенолов к встраиванию в разные участки мицелл темплата может быть использована для формирования матриц кремнезема, в которых

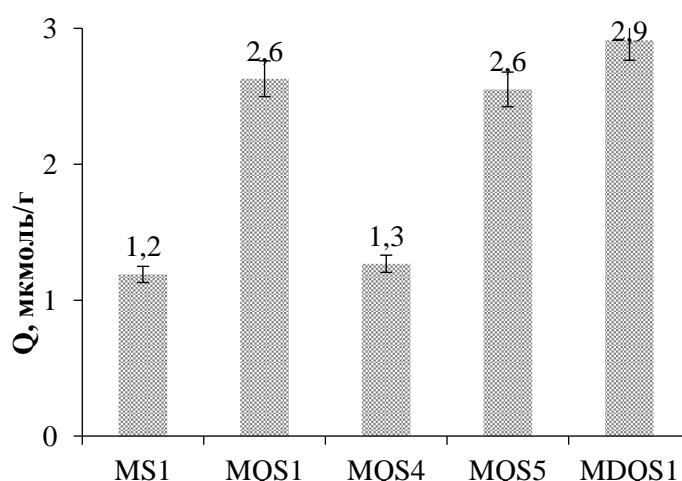
расположение силанольных групп на поверхности мезопор будет соответствовать отпечатку фрагмента молекулы флавоноида [164]. Синтез сорбентов в присутствии потенциальных аналитов позволяет повысить селективность материалов к целевым компонентам [43]. Однако необходимо учитывать, что при золь-гель синтезе с использованием неионогенных блоксополимеров флавоноид может встраиваться в ядро мицелл, не контактируя при этом с кремнеземом при его конденсации. Как подробно обсуждалось в разделе 3.1.4, связывание кверцетина с мицеллами Pluronic P123 можно контролировать, варьируя состав растворителя. По данным динамического рассеяния света, наиболее заметное влияние кверцетина на мицеллы блоксополимера происходит при мольном соотношении  $n(\text{P123}):n(\text{EtOH})=1:80$ . Предполагалось, что при таком составе реакционной смеси присутствие кверцетина окажет влияние и на свойства кремнезема (образец MQS1).

Анализ величин сорбционной емкости (рис. 4.2) показывает, что добавление кверцетина на стадии синтеза позволяет повысить величину  $Q$  в 2 раза по сравнению с материалом, полученным без добавок флавоноида (MS1). При этом для остальных кремнеземов серии MQS величины сорбционной емкости близки между собой [183]. Закономерности в изменении сорбционной емкости также согласуются с количеством свободных силанольных групп по данным ИК-спектроскопии (раздел 3.2.1).



**Рис. 4.2.** Равновесная сорбционная емкость при сорбции кверцетина из ацетонитрильных растворов кремнеземами, аналогами SBA-15, синтезированными в присутствии кверцетина при варьировании количества этанола.  $c=0.14$  мМ,  $m=0.1000$  г,  $V=10.00$  см<sup>3</sup>.

Синтез кремнезёмов в реакционной среде с мольным соотношением  $n(\text{SiO}_2):n(\text{EtOH})=1.0:0.4$  проводили при варьировании количества кверцетина, а также в присутствии дигидрокверцетина [184]. Можно отметить, что синтез в присутствии дигидрокверцетина позволяет достигать аналогичной сорбционной емкости кверцетина (рис. 4.3). Увеличение количества флавоноида в реакционной смеси не приводит к дальнейшему увеличению величины  $Q$ , что может быть связано с более существенным встраиванием полифенола в ядро мицелл шаблона в условиях синтеза. Полученные результаты подтверждают возможность выбора условий синтеза мезопористых кремнезёмов с заданными свойствами по данным о структурообразовании темплата. Это позволит расширить круг используемых поверхностно-активных веществ и снизить расход реактивов при получении сорбентов с высокой селективностью и эффективностью слоя сорбента по отношению к целевым веществам.



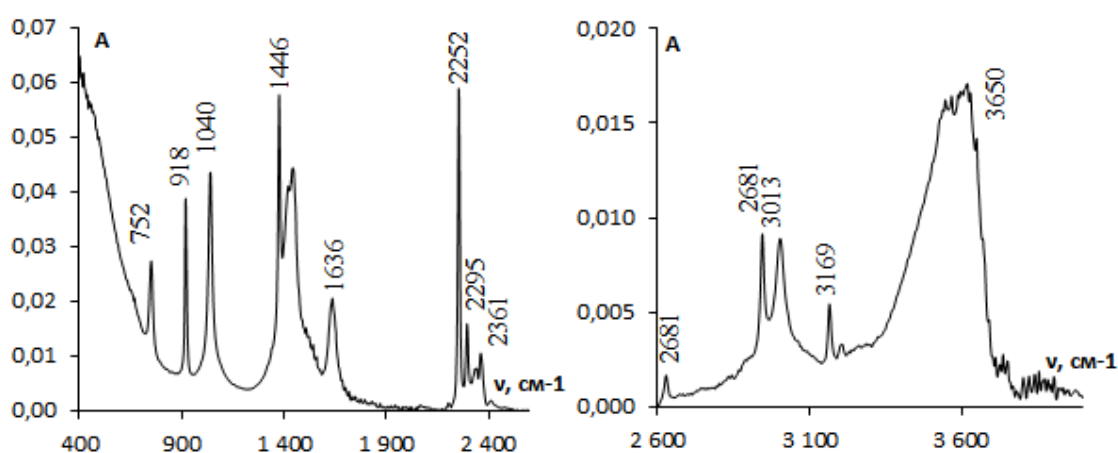
**Рис. 4.3.** Равновесная сорбционная емкость при сорбции кверцетина из ацетонитрильных растворов кремнеземами, аналогами SBA-15, синтезированными в присутствии кверцетина и дигидрокверцетина.  $c=0.14$  мМ,  $m=0.1000$  г,  $V=10.00$  см<sup>3</sup>.

#### 4.1.3 Сорбция кверцетина на упорядоченных кремнеземах при варьировании состава растворителя

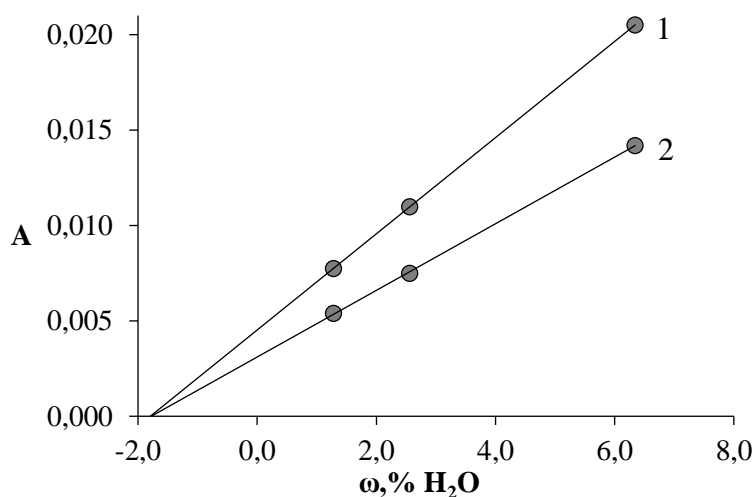
Равновесные параметры сорбции могут зависеть не только от природы сорбента, но и от состава раствора, природы взаимодействий сорбат-сорбент,

сорбат-растворитель, растворитель-сорбент. Изменение состава раствора может существенно влиять на сорбционные свойства кремнезёмов, их селективность к полифенолам, равновесные и кинетические параметры сорбции. Ранее этот вопрос на упорядоченных мезопористых кремнезёмах практически не рассматривался. В связи с этим была изучена зависимость сорбционной ёмкости кремнезёма, аналога МСМ-41, при сорбции кверцетина при варьировании состава растворителя ацетонитрил – вода [185].

Оценку содержания воды в ацетонитриле проводили методом добавок. На рис. 4.4 представлен ИК-спектр ацетонитрила с добавкой воды (8.1 мас. %). Полоса при волновом числе  $752\text{ см}^{-1}$  соответствует деформационным колебаниям С–Н;  $918$  и  $1040\text{ см}^{-1}$  – валентным колебаниям С–С;  $1375$ ,  $1446\text{ см}^{-1}$  – деформационным колебаниям С–Н;  $1636\text{ см}^{-1}$  – деформационным колебаниям О–Н;  $2252$ ,  $2295$ ,  $2367\text{ см}^{-1}$  – валентным колебаниям  $\text{C}\equiv\text{N}$ ;  $2681$ ,  $2990$ ,  $3013$ ,  $3169\text{ см}^{-1}$  – валентным колебаниям С–Н;  $3650\text{ см}^{-1}$  – валентным колебаниям О–Н [180]. Зависимость оптической плотности от содержания воды в водно-ацетонитрильной смеси при волновых числах  $1635$  и  $1650\text{ см}^{-1}$  позволяет предполагать возможность контроля содержания воды в растворе методом ИК-спектроскопии. Градуировочные зависимости (рис. 4.5) строили по величинам оптических плотностей, соответствующим волновым числам  $1636$  и  $3649\text{ см}^{-1}$  при варьировании содержания воды ( $\omega$ , %) в ацетонитриле.



**Рис. 4.4.** ИК-спектр ацетонитрила, содержащего 8,1 мас. % воды.



**Рис. 4.5.** Градуировочная зависимость оптической плотности от концентрации ( $\omega$ , %) добавленной воды: 1 – при волновом числе  $1636 \text{ см}^{-1}$ , 2 – при волновом числе  $3649 \text{ см}^{-1}$ .

Метрологические характеристики определения содержания воды в ацетонитриле представлены в таблице 4.1. Можно отметить, что при волновом числе  $1636 \text{ см}^{-1}$  чувствительность и воспроизводимость определения выше. Предел обнаружения составил 0.05 и 0.20 мас. % воды при определении при волновых числах 1636 и  $3649 \text{ см}^{-1}$ , соответственно. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что метод ИК-спектроскопии является надёжным для определения содержания воды в ацетонитриле при ее содержании более 0.05 мас. %, о чём свидетельствуют удовлетворительные величины относительных стандартных отклонений, относительных погрешностей, а также минимально определяемых концентраций.

Таблица 4.1

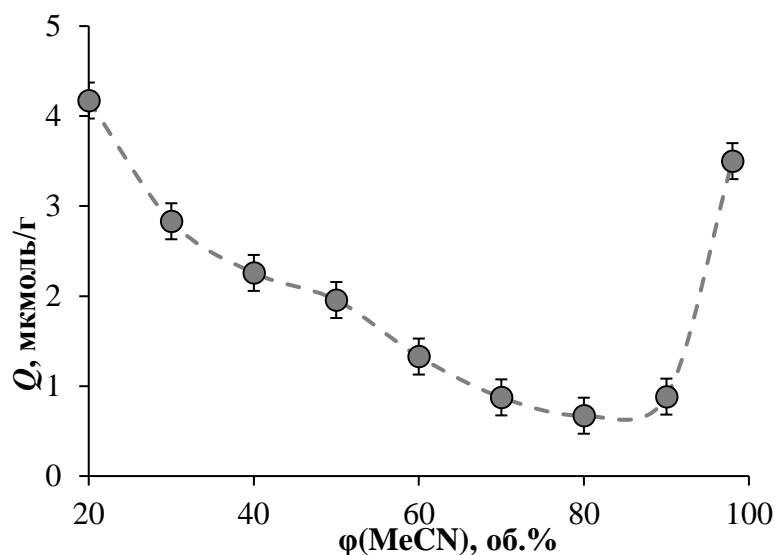
Метрологические характеристики определения воды в ацетонитриле методом ИК-спектроскопии

$\nu$ , $\text{см}^{-1}$	$A_0^*$	$S^{**}$ , $\%^{-1}$	$S_r$	$\omega_{\min}$ , мас. % ВОДЫ	$\Delta\omega/\omega$ , %
3649	$3.10 \cdot 10^{-3}$	$1.75 \cdot 10^{-3}$	0.010	0.20	3
1636	$4.52 \cdot 10^{-3}$	$2.52 \cdot 10^{-3}$	0.003	0.05	0.7

\* $A_0$  – величина оптической плотности раствора без добавки;

\*\* $S$  – коэффициент чувствительности.

Изучение сорбционных свойств твердофазных материалов при варьировании состава растворителя представляет интерес для расширения вариантов твердофазной экстракции, в которых могут быть использованы синтезированные кремнеземы при определении полифенольных соединений в различных объектах. Как видно из рис. 4.6, зависимость сорбционной емкости кремнезема МС1 от состава растворителя имеет нелинейный характер.



**Рис 4.6.** Зависимость сорбционной ёмкости при сорбции кверцетина ( $c=1.4 \cdot 10^{-4}$  моль/дм<sup>3</sup>) кремнеземом МС1 (аналог МСМ-41) из водно-ацетонитрильных растворов от содержания ацетонитрила.

Минимальная величина сорбционной ёмкости аналога МСМ-41 по кверцетину наблюдается при 80-90%-ном содержании ацетонитрила в водно-ацетонитрильной смеси, при дальнейшем увеличении его содержания количество сорбированного вещества резко возрастает. Это связано со снижением блокировки сорбционных центров водой. Максимальная сорбционная ёмкость упорядоченного кремнезема соответствует нижней границе изучаемого интервала содержания ацетонитрила в растворе. Дальнейшее рассмотрение не проводилось в связи с низкой растворимостью кверцетина в воде.

Как отмечено авторами [186], значительное влияние на свойства кверцетина в растворе в смесях вода – апротонный растворитель оказывает их взаимодействие между собой. При варьировании состава раствора изменяется характер взаимодействий кверцетина с растворителем, что отражается, прежде всего, в

изменении строения сольватных оболочек, которые во многом определяют кинетику и термодинамику сорбционного процесса.

#### **4.2 Сорбционное извлечение флавоноидов из ацетонитрильных растворов в динамических условиях**

Упорядоченные мезопористые кремнеземы могут использоваться при выделении веществ, их очистке, сорбционно-хроматографическом разделении и т.д. При выборе сорбента необходимо учитывать степень извлечения аналитов, коэффициенты концентрирования, возможность разделения компонентов смеси. Сорбционное концентрирование в динамических условиях на стадии пробоподготовки проводится как при классической твердофазной экстракции, так и в современных ее вариантах, направленных на миниатюризацию анализа. Однако в литературе отсутствует систематическое рассмотрение особенностей сорбционного концентрирования органических веществ, в том числе флавоноидов, на кремнеземах при варьировании типа структуры, размера пор, природы и удельной плотности сорбционных центров на поверхности материала. Это не позволяет использовать существенные преимущества упорядоченных мезопористых кремнеземов, связанных с возможностью получения материалов с заданными свойствами, при выборе твердофазных материалов для их использования на стадии пробоподготовки.

В настоящей работе рассматривается эффективность сорбционного концентрирования с учетом свойств сорбентов. Влияние типа симметрии рассмотрено на примере аналогов MCM-41, SBA-15 (гексагональная структура) и KIT-6 (кубическая структура). Использование аналогов MCM-41 и SBA-15 позволяет рассмотреть фактор размера пор при разделении и концентрировании флавоноидов разных групп. Также учитываются природа и количество сорбционных центров на поверхности мезопор. Сорбционные свойства аналогов MCM-41, SBA-15 и KIT-6 при концентрировании агликонов и гликозидов

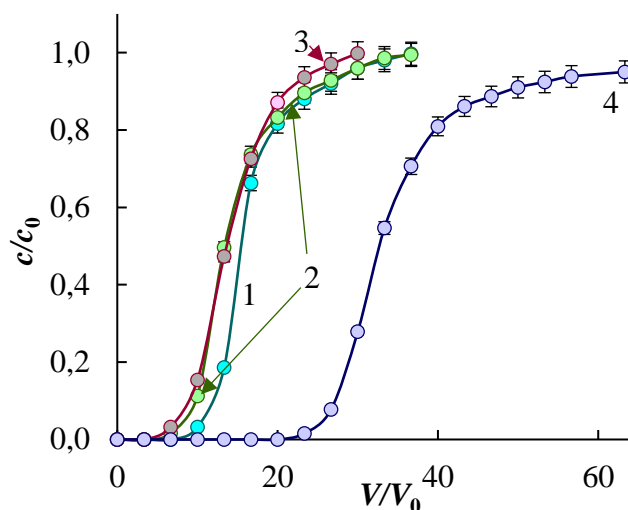
флавоноидов из ацетонитрильных растворов изучали в варианте фронтальной хроматографии.

#### **4.2.1 Концентрирование флавоноидов на кремнеземах с разным размером пор**

Ранее показано, что на коммерчески доступном кремнеземе МСМ-41 возможно разделение агликонов и гликозидов флавоноидов (на примере кверцетина и нарингина), обусловленное ситовым эффектом с учетом закономерностей эксклюзионной хроматографии [41]. Как видно на рис. 4.7, вид выходных кривых сорбции флавоноидов на синтезированном аналоге МСМ-41 не позволяет проводить разделение рассматриваемых аналитов, поскольку их факторы удерживания близки между собой (табл. 4.2) [187]. Наибольшее удерживание отмечено для рутина (с коэффициентом емкости (фактором удерживания, формула 2.5))  $k'=10.0$ ). Этот флавоноид характеризуется максимальным размером молекулы из рассматриваемых полифенолов и вероятно удерживается преимущественно на внешней поверхности, в отличие от кверцетина и дигидрокверцетина, которые могут адсорбироваться в мезопорах.

Вид выходных кривых сорбции рассмотренных аналитов предполагает возможность группового концентрирования флавоноидов на аналоге МСМ-41. Однако у сорбентов этого типа есть ряд ограничений для использования в динамических условиях. Одно из них заключается в высоком противодавлении и усадке кремнезема в процессе пропускания раствора. Это будет отражаться на снижении воспроизводимости анализа за счет непостоянства скорости потока, что было отмечено в результате проведения экспериментов. Также это делает затруднительным повторное использование картриджа. Второе ограничение использования коммерчески доступного аналога МСМ-41 в процессах сорбционного разделения и концентрировании флавоноидов – изменения в спектре поглощения электромагнитного излучения после десорбции аналитов,

указывающие на изменение в их структуре после взаимодействий с силанольными группами на поверхности твердофазного материала [188].



**Рис. 4.7.** Выходные кривые сорбции флавоноидов из индивидуальных ацетонитрильных растворов на кремнеземе MC1: 1 – кверцетин, 2 – дигидрокверцетин, 3 – нарингин, 4 – рутин.  
 $m=0.1000$  г,  $h=3.0$  см.

Таблица 4.2

Факторы удерживания  $k'$  флавоноидов кремнеземами с гексагональной структурой

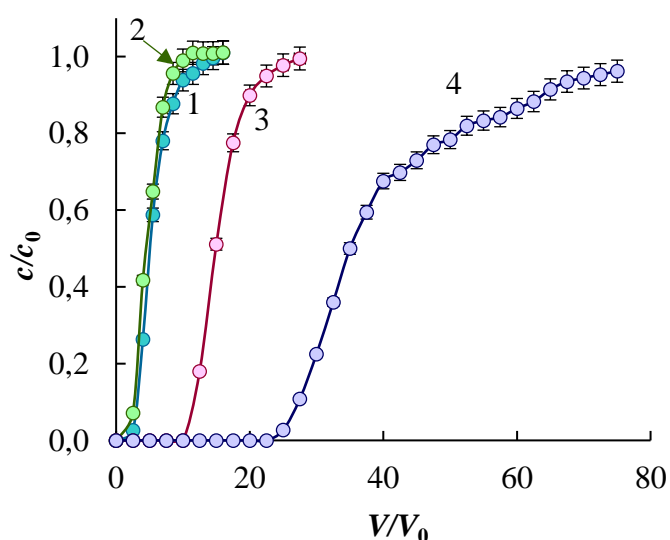
Флавоноид	MC1*	MS1*
Кверцетин	4.2	0.70
Дигидрокверцетин	3.5	0.46
Нарингин	3.6	3.8
Рутин	10.0	10.3

MC1 и MS1 – упорядоченные кремнеземы, синтезированные с использованием в качестве прекурсора коллоидного раствора  $\text{SiO}_2$  Ludox-HS-40; аналоги MCM-41 и SBA-15, соответственно.

Более подходящими для использования в динамическом сорбционном концентрировании можно считать кремнеземы – аналоги SBA-15. Эти материалы характеризуются большей толщиной стенок [87], что делает их более стабильными с возможностью многократного использования. Размер пор сопоставим с размерами молекул аналитов, в результате сорбция может происходить как на внешней, так и на внутренней поверхности мезопор. В случае использования синтезированных аналогов SBA-15 для концентрирования флавоноидов

происходят заметные изменения в сорбционной селективности по отношению к разным группам флавоноидов (рис. 4.8). Как видно из таблицы 4.2, для кверцетина и дигидрокверцетина существенно (в 6-7 раз) снижаются факторы удерживания по сравнению с гликозидами (нарингином и рутином). Это позволяет рассматривать синтезированные кремнеземы как материалы для разделения групп флавоноидов.

Сорбция веществ в динамических условиях является сложным процессом, который определяется как равновесными, так и кинетическими параметрами. Вид выходных кривых позволяет качественно оценить вклад внешней и внутренней диффузии в кинетику сорбции. Размывание выходной кривой на начальном участке указывает на преобладание роли внешней диффузии. Размытие на конечной стадии процесса свидетельствует о внутридиффузионном лимитировании. В разделе 4.1.3 отмечено, что присутствие воды в ацетонитриле существенно сказывается на сорбционных свойствах кремнезёмов в статических условиях. Можно полагать, что присутствие воды также может оказывать заметное влияние на вид выходных кривых. Их размывание может быть связано с конкурентной сорбцией воды, которая вытесняется по мере заполнения поверхности пор сорбентов полифенолами.

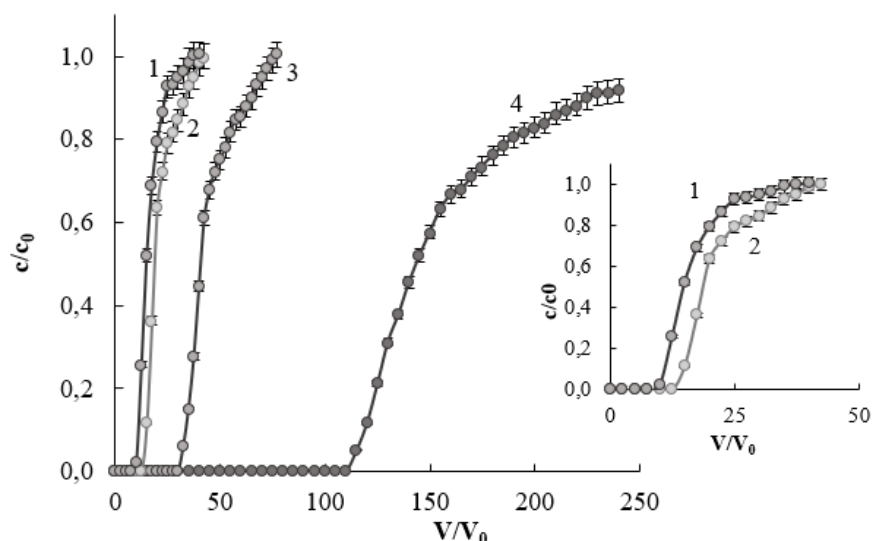


**Рис. 4.8.** Выходные кривые сорбции флавоноидов из индивидуальных ацетонитрильных растворов ( $c=0.07$  мМ) на кремнеземе MS1. 1 – кверцетин, 2 – дигидрокверцетин, 3 – нарингин, 4 – рутин.  
 $m=0.2000$  г,  $h=4.0$  см.

#### 4.2.2 Концентрирование флавоноидов на аналогах SBA-15 с молекулярными отпечатками потенциальных аналитов

Синтез сорбентов в присутствии флавоноида позволяет контролировать доступность сорбционных центров для аналитов. Молекулярные отпечатки молекул-шаблонов в матрице сорбента в большей степени приводят к улучшению сродства сорбента к определенному типу молекул (функциональных групп). В этом случае можно говорить о возрастании роли равновесных характеристик сорбции, влияющих на селективность кремнезема к аналиту. Вместе с этим, изменение в распределении сорбционных центров и их природы на поверхности мезопор кремнеземов может сопровождаться варьированием гидратации (раздел 3.2.1), а именно ее снижением при синтезе мезопористого кремнезема в присутствии кверцетина.

При использовании в качестве сорбента кремнезема, полученного в присутствии кверцетина (MQS1), общие закономерности в селективности материала к полифенолам сохраняются (рис. 4.9) [189]. Импринтинг фактор  $IF$ , рассчитанный по формуле (2.1) для рассматриваемых флавоноидов составил 3.1-5.0 (табл. 4.3). В отличие от материала без молекулярного отпечатка, появляется возможность разделения кверцетина и дигидрокверцетина (рис. 4.9). В то же время, рост сорбционной емкости кремнезема MQS1 по отношению к полифенолам сопровождается более выраженным размыванием выходных кривых сорбции флавоноидов. Можно отметить, что при превышении относительных концентраций  $c/c_0=0.7$  (рис. 4.9) на всех выходных кривых наблюдается перегиб, указывающий на изменение механизма сорбции, а следовательно, при концентрировании флавоноида в динамических условиях следует реализовывать его сорбцию до  $c/c_0=0.7$  на кривых проскока с последующим переходом к десорбции целевых веществ и регенерации сорбента в колонке.



**Рис. 4.9.** Выходные кривые сорбции флавоноидов из индивидуальных ацетонитрильных растворов на аналоге SBA-15 с молекулярными отпечатками кверцетина MQS1. 1 – кверцетин, 2 – дигидрокверцетин, 3 – нарингин, 4 – рутин.  
 $m=0.2000$  г,  $h=4.0$  см.

Таблица 4.3

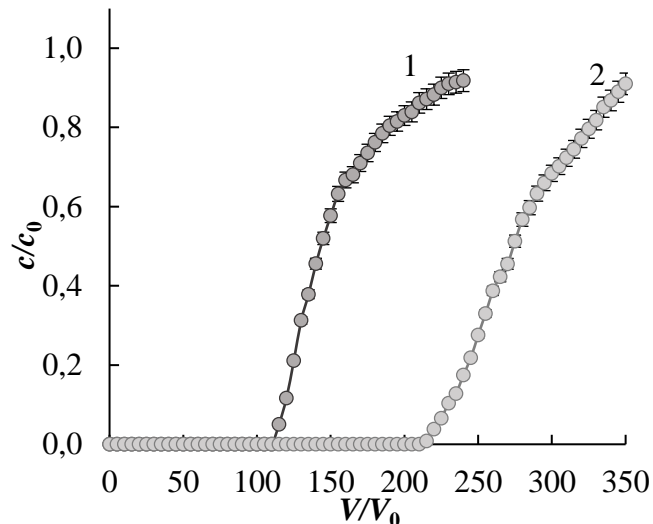
Импринтинг фактор для кремнезема MQS1

Флавоноид	$Q$ , мкмоль/г		$IF$
	MS1	MQS1	
Кверцетин	$0.34 \pm 0.04$	$1.1 \pm 0.1$	3.2
Дигидрокверцетин	$0.28 \pm 0.04$	$1.4 \pm 0.1$	5.0
Нарингин	$1.0 \pm 0.1$	$3.1 \pm 0.2$	3.1
Рутин	$2.8 \pm 0.2$	$10.8 \pm 0.5$	3.8

#### 4.2.3 Концентрирование флавоноидов на кремнеземах с разным типом структуры

Еще одним фактором, оказывающим влияние как на сорбционные свойства кремнезёмов, так и на их применение в процессах сорбционно-хроматографического разделения, выделения и концентрирования в вариантах твердофазной экстракции, в том числе в динамических условиях, является тип структуры упорядоченного материала [190]. Данный фактор рассматривали при сорбции рутина на сорбентах с близкой удельной плотностью свободных

силанольных групп (раздел 3.2.1) – аналоге SBA-15, синтезированном в присутствии кварцетина (MQS1, гексагональная структура), и аналоге KIT-6 (образец МК1, кубическая структура). Максимальная сорбционная ёмкость рутина из рассмотренных твердофазных материалов достигается на кремнеземе МК1. Это обусловлено большей доступностью сорбционных центров на поверхности мезопор в связи с особенностями кубической структуры.



**Рис. 4.10.** Выходные кривые сорбции рутина из индивидуального раствора ( $c=0.07$  мМ) на кремнеземах MQS1 (1) и МК1 (2).  $m=0.2000$  г,  $h=4.0$  см.

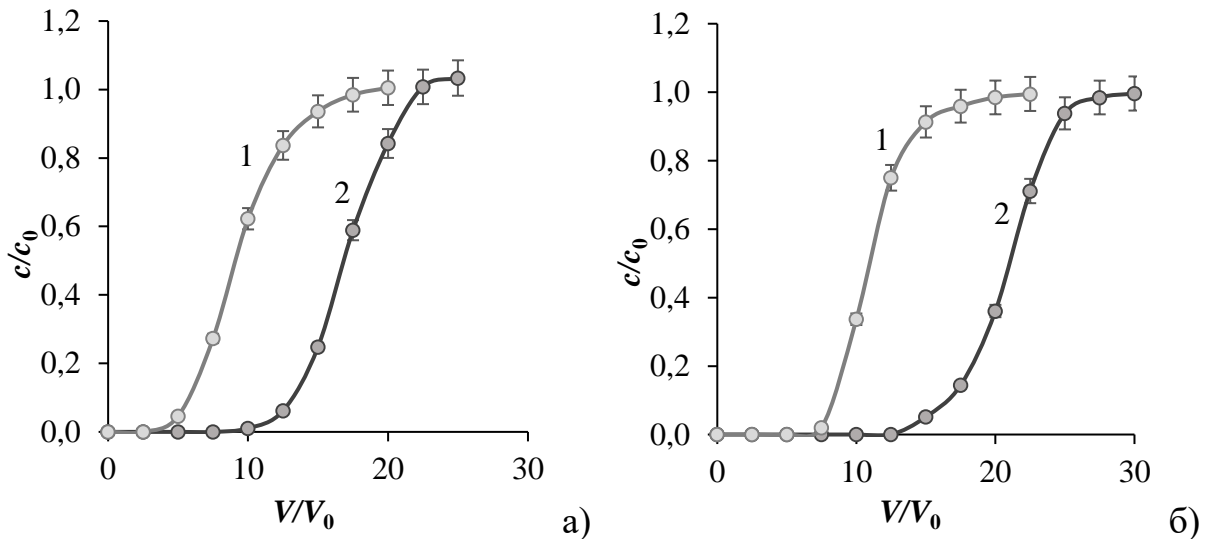
При изменении типа структуры можно отметить рост вклада внешней диффузии в кинетику процесса: начальный участок выходной кривой сорбции рутина на МК1 имеет более размытый вид (рис. 4.10). Это может быть обусловлено несферической морфологией частиц аналога KIT-6 [191]. Увеличение вклада внешней диффузии снижает коэффициенты диффузии на начальном участке выходной кривой сорбции и отражается на уменьшении эффективности сорбционного концентрирования, что будет обсуждаться ниже.

Как отмечено в литературе, открытая трехмерная система мезопор снижает диффузионные ограничения при сорбции аналитов, а искривленная форма пор ускоряет массоперенос. Работы по изучению сорбционных свойств кремнезёмов с кубической структурой ограничены преимущественно сорбцией ионов металлов. Малочисленность исследований, направленных на использование аналогов KIT-6 в сорбционных процессах, обусловлена узким диапазоном условий, в которых

формируется кубическая мезофаза (раздел 3.1.2). Небольшие отклонения от мольного соотношения бутанола-1 и источника силиката при синтезе, а также колебания температуры, приводят к формированию частиц кремнезема со структурой, включающей кроме кубических гексагональные и аморфные участки [88].

#### **4.2.4 Концентрирование флавоноидов на аналогах SBA-15, модифицированных триметилхлорсиланом**

Для повышения эффективности колонок в процессах сорбционного выделения, концентрирования и сорбционно-хроматографического разделения с учетом равновесных и кинетических параметров сорбции, упорядоченные мезопористые кремнеземы, аналогично классическим силикагелям, часто используются после модификации органическими функциональными группами. В работах [41, 192] отмечено, что при сорбции флавоноидов на аналоге MCM-41 с мезопорами 3.0-3.5 нм и с привитыми триметилсилильными группами возрастает сорбционная емкость кверцетина и (+)-катехина, а выходные кривые сорбции становятся более симметричными. В настоящей работе (рис. 4.11) показано, что особенности сорбции в динамических условиях на модифицированных аналогах SBA-15 с размером пор 5-10 нм носят иной характер. В отличие от аналогов MCM-41, на кремнеземах с более широкими мезопорами происходит снижение сорбционной емкости после модификации гидрофобными группами (рис. 4.12). Также нет значимых различий в удерживании флавоноидов при варьировании исходной удельной плотности свободных силанольных групп на поверхности мезопор кремнезема. Можно говорить о том, что основные различия в сорбции веществ достигаются за счет не природы сорбционных центров, а объема и доступности пространства мезопор для молекул аналитов.

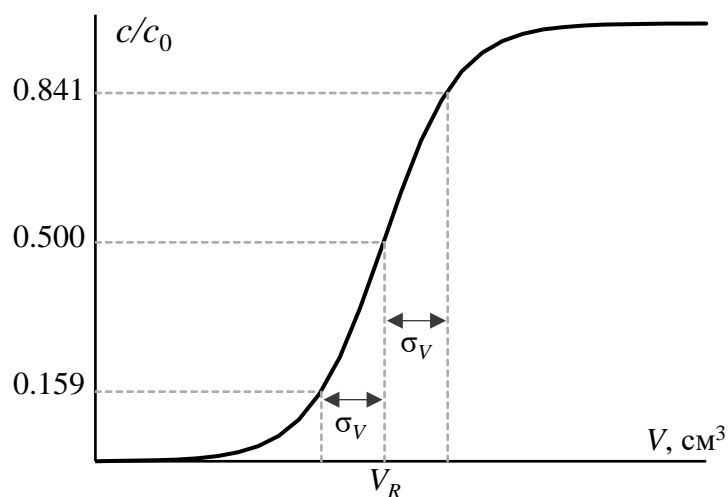


**Рис. 4.11.** Выходные кривые сорбции кверцетина (1) и рутина (2) на сорбентах, метилированных аналогах SBA-15: а) MS1-Met, б) MQS1-Met.  $c=0.07$  мМ,  $m=0.2000$  г.

### 4.3 Оценка хроматографической эффективности при сорбционном концентрировании флавоноидов на упорядоченных кремнеземах

Хроматографическая эффективность, выражаемая в величинах числа теоретических тарелок (ЧТТ) для сорбционного слоя, имеет сходство в особенностях расчета этого параметра для процессов сорбционного концентрирования в динамических условиях. Оценка хроматографической эффективности синтезированных сорбентов проводили, рассчитывая ЧТТ с использованием модели теории эквивалентных теоретических тарелок применительно к твердофазной экстракции [193]. Расчет числа теоретических тарелок ( $N$ ) проведен при учете относительного объема удерживания ( $V_R$ ) и стандартного отклонения относительного объема «проскока» вещества ( $\sigma_{V/V_0}$ ) на выходной кривой, соответствующего относительной концентрации  $c/c_0=0.159-0.500$  и  $c/c_0=0.500-0.841$  (рис. 4.12, табл. 4.3). Число теоретических тарелок рассчитывали, используя выражение (4.1) [193]:

$$N = V_R(V_R - \sigma_V)/\sigma_V^2. \quad (4.1)$$



**Рис. 4.12.** Типичный вид выходной кривой.  $V_R$  – объем удерживания,  $\sigma_V$  – стандартное отклонение объема удерживания вещества при его перемещении в сорбенте [193].

Как видно из табл. 4.4, число теоретических тарелок при сорбции гликозидов значительно больше, чем при сорбции агликонов. При сорбции нарингина на MS1 обращает внимание близость величин ЧТТ (620 и 270) рассчитанных по данным двух участков кривой  $c/c_0=0.159-0.500$  и  $c/c_0=0.500-0.841$ , соответственно. В остальных случаях (при сорбции кверцетина, дигидрокверцетина и рутина как на MS1 (аналоге SBA-15), так и на кремнеземе MQS1 (синтезированном с молекулярными отпечатками кверцетина), значительное размывание выходных кривых приводит к заметному снижению эффективности сорбционного слоя (уменьшению ЧТТ) после достижения  $c/c_0=0.5$ . Это может быть связано с неоднородностью сорбционных центров (на поверхности и в мезопорах). Часть силанольных групп может быть блокирована молекулами гидратной воды (о чем свидетельствуют данные ИК-спектроскопии, см. раздел 3.2.1). Следовательно, размывание выходной кривой при  $c/c_0>0.5$  может быть связано с конкурентной сорбцией воды (на различных по природе силанольных группах, что более подробно обсуждалось в разделе 3.2.1), которая вытесняется по мере заполнения поверхности пор сорбентов полифенолами. Для более полярного нарингина этот эффект проявляется в меньшей степени.

Параметры эффективности хроматографических колонок при сорбции флавоноидов упорядоченными кремнеземами

Флавоноид	Сорбент	$V_R$ , см <sup>3</sup>	$\sigma_V/V_0$		$N$ , т.т./м	
			$c/c_0 < 0,5$	$c/c_0 > 0,5$	$c/c_0 < 0,5$	$c/c_0 > 0,5$
Кверцетин	MS1*	1.0	0.4	0.5	120	50
	MQS1**	2.9	0.6	1.4	400	60
Дигидрокверцетин	MS1	0.9	0.3	0.4	120	50
	MQS1	3.8	0.7	2.2	660	30
Нарингин	MS1	3.0	0.5	0.8	620	270
	MQS1	8.2	1.1	2.8	1100	140
Рутин	MS1	7.0	1.3	4.4	610	25
	MQS1	28	4.2	12.4	970	80

\*MS1 – аналог SBA-15; \*\*MQS1 – аналог SBA-15 с молекулярными отпечатками кверцетина.

Более симметричные выходные кривые, соответствующие большей эффективности сорбента при извлечении и концентрировании аналита в динамических условиях, и подчиняясь теории тарелок Мартина и учитывая работы Клинкаберта и Ван-Деемтера, могут быть получены при использовании сорбента с меньшим размером частиц и его более плотной упаковкой.

#### 4.4 Оптимизация сорбционного концентрирования флавоноидов в динамических условиях

Модель эквивалентных теоретических тарелок позволяет оценить размывание выходных кривых сорбции, но не дает основание выбора наиболее подходящего сорбента для концентрирования определенных веществ. В модели *Веницианова-Цизина* [194] учитываются как равновесные, так и кинетические параметры сорбции. Это позволяет сравнивать сорбционные системы между собой, а также выбирать оптимальные условия для проведения концентрирования (сорбент, высоту его слоя, скорость потока раствора).

Выбор сорбента для сорбционного концентрирования компонентов осуществляется на основании определенных критериев, рассчитанных для конкретных сорбентов и аналитов. Одним из вариантов таких критериев являются факторы, характеризующие увеличение аналитического сигнала. Авторами работы [195] предложен интегральный критерий  $CE$ , называемый эффективностью сорбционного концентрирования. Первоначально эта величина определялась как произведение коэффициента обогащения (отношения аналитических сигналов, полученных после концентрирования и до него) и производительности анализа (его времени). Поскольку такая формулировка предполагает, что величина  $CE$  не зависит от методов концентрирования и детектирования, то эту характеристику можно использовать для сравнения эффективности различных проточных сорбционных систем. Однако, как отмечено авторами [195], с учетом приведенного определения у величины  $CE$  есть некоторые недостатки: не удастся выделить вклад собственно стадии концентрирования в общую эффективность анализа. Также при расчете эффективности концентрирования не учитывается степень извлечения компонента.

Авторами работы [195] указано, что под  $CE$  для стадии концентрирования понимается коэффициент концентрирования, достигаемый в единицу времени при заданной степени извлечения компонента. Решение задач оптимизации сорбционного концентрирования в этом случае проводится с учетом двух ограничений. Первым являются «потери» целевого компонента  $\chi$  [195]:

$$\chi = \frac{Q_b}{Q_0},$$

где  $Q_b$  – количество «проскока», г;  $Q_0$  – количество поступившего в слой компонента, г.

Второе ограничение – доля использованной емкости сорбционного слоя  $\eta$  в момент прекращения потока [195]:

$$\eta = \int_0^1 \frac{a(x, t)}{K_d' C_0} dx,$$

где  $x$  – высота слоя сорбента, см;  $t$  – время сорбции, с;  $K_d'$  – безразмерный коэффициент распределения.

Безразмерные переменные координаты и времени определяются в соответствии с выражениями [43]:

$$X = \frac{xDK_d\varepsilon}{Ur^2}, T = \frac{tD}{r^2},$$

где  $D$  – эффективный коэффициент диффузии, см<sup>2</sup>/с;  $K_d$  – коэффициент распределения, см<sup>3</sup>/г;  $\varepsilon$  – коэффициент порозности сорбента, г/см<sup>3</sup>;  $U$  – линейная скорость потока, см/с,  $r$  – радиус зерна сорбента, см.

При заданных метрологических требованиях (обычно принимают  $\chi=0.1$ ,  $\eta$  рассчитывают по данным выходной кривой) находили  $X_{\text{опт}}$  и  $T_{\text{опт}}$  графическим совмещением изолиний  $\chi$  и  $\eta$  в одной плоскости  $X-T$  [195]. Для оценки эффективности сорбционного концентрирования  $CE$  размерные выражения оптимальных высоты слоя сорбента и полного времени сорбции определяли как:

$$x_0 = X_{\text{опт}} \frac{UR^2}{DK_d\varepsilon}, t_0 = T_{\text{опт}} \frac{R^2}{D}. \quad (4.2)$$

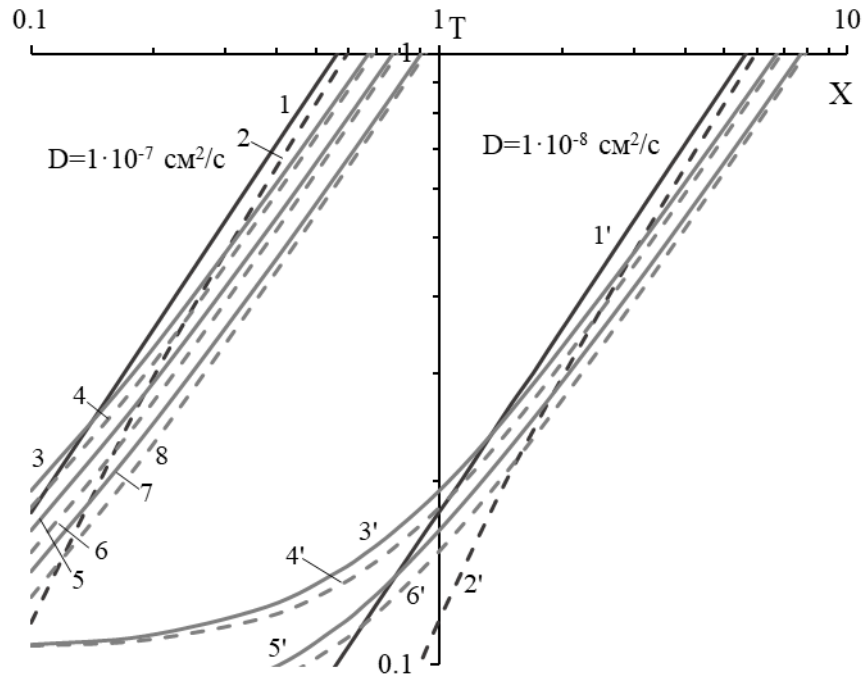
Эффективность концентрирования  $CE$  рассчитывали с учетом безразмерного коэффициента распределения  $K_d'$  по формуле:

$$CE = \frac{X_{\text{опт}}K_d'}{T_{\text{опт}}t_0}. \quad (4.3)$$

Эффективность концентрирования связана с коэффициентом концентрирования  $K_K$ . Коэффициент концентрирования рассчитывали как [195]:

$$K_K = \eta K_d'. \quad (4.4)$$

Решение задач оптимизации динамического сорбционного концентрирования позволяет определить оптимальные высоту слоя сорбента  $x_0$  и полное время сорбции  $t_0$ . Для этого  $\chi$  и  $\eta$  представляют в виде изолиний в плоскости  $X-T$  (рис. 4.13) [195]. Венициановым Е.В. с соавт. [196] приведены результаты численных расчетов функций  $\chi(X,T)$  и  $\eta(X,T)$  при заданных диффузионном параметре  $\delta$  и коэффициентах диффузии  $D$ .



**Рис. 4.13.** Теоретические функции полноты использования сорбционной емкости  $\eta(X, T)$  и уровня проскока  $\chi(X, T)$ , используемые для определения максимально достижимой эффективности концентрирования: 1, 2, 1', 2' –  $\chi=0.1$ ; 3, 4, 3', 4' –  $\eta=0.8$ ; 5, 6, 5', 6' –  $\eta=0.7$ ; 7, 8, 7', 8' –  $\eta=0.6$ .  $\delta=5$  – пунктирные линии,  $\delta=10$  – сплошные линии [43].

Оптимизация динамического сорбционного концентрирования проводится с учетом механизма сорбции, который может быть определен по виду выходных кривых. Как отмечено в работах [41, 125, 197] при описании сорбции веществ в динамических условиях важно рассматривать влияние кинетики сорбции. При этом существенное значение имеют внутри- и внешнедиффузионное лимитирование скорости сорбции. Хорошо известно, что диффузионный параметр  $\delta$  является аналогом диффузионного критерия Био, отражающего вклад скорости диффузии в грануле сорбента и в пленке жидкости на поверхности сорбента. В настоящей работе диффузионный параметр  $\delta$  определяли графо-аналитически [41]. В литературе для построения теоретических кривых динамики сорбции представлены табулированные значения только при  $\delta=1$  и  $\delta=10$ . В то же время, требуется оценка и при промежуточных величинах ( $1 < \delta < 10$ ), то есть не только при сопоставимом вкладе внешней и внутренней диффузии ( $\delta=1$ ), но и с превалированием внутридиффузионного лимитирования. В работе [188] отмечено

существенное влияние диффузионного параметра  $\delta$  на высоту сорбционного слоя и времени концентрирования, оптимальных для определяемого компонента. Это влияние возрастает при больших степенях использования сорбционной емкости, которые достигаются при сорбции на упорядоченных кремнеземах. Из-за отсутствия таковых в литературе в настоящей работе [43] дополнительно рассчитаны теоретические кривые в координатах  $X-T$  для случая  $\delta=5$  (рис. 4.13). Это позволяет более корректно рассчитывать параметры сорбционного концентрирования флавоноидов на упорядоченных кремнеземах.

Для моделирования выходных кривых флавоноидов наноструктурированными кремнеземами, в том числе, с учетом кинетики сорбции и сопоставления их с экспериментальными выходными кривыми, коэффициенты диффузии рассчитывали по начальному участку выходных кривых в соответствии с работой [198] (табл. 4.5). При сорбции флавоноидов упорядоченными кремнеземами важно отметить существенное значение кинетики сорбции. Для рассматриваемых полифенолов при их сорбции аналогами SBA-15 отмечается высокая (до 0.8) полнота используемой сорбционной емкости «до проскока» (табл. 4.5). Анализ данных таблицы 4.5 показывает, что упорядоченная структура кремнеземов уменьшает диффузионные ограничения при сорбционном концентрировании аналитов, снижая размывание их фронта сорбции, по сравнению с неупорядоченными силикагелями [188].

Для всех рассматриваемых сорбентов и аналитов сорбция характеризуется смешаннодиффузионной динамикой с преобладанием внутридиффузионного лимитирования ( $\delta=5-12$ ) [43]. Для гликозидов флавоноидов наряду с ростом вклада внутридиффузионного контроля достигаются более высокие величины эффективности сорбционного концентрирования  $CE$  и коэффициенты концентрирования  $K_{\text{конц}}$ , рассчитанные с учетом коэффициентов распределения аналитов и доли использованной емкости «до проскока». Вместе с тем, для агликонов флавоноидов (кверцетина и дигидрокверцетина) отмечается снижение вклада внутридиффузионного лимитирования, сопровождающееся уменьшением эффективности сорбционного концентрирования при переходе от кремнезема MS1

к его аналогу, полученному в присутствии кверцетина. Можно полагать, что рост внутридиффузионной составляющей способствует увеличению  $CE$ .

Таблица 4.5

Параметры сорбционного концентрирования флавоноидов мезопористыми кремнеземами

Флавоноид	Сорбент	$K_d$ , см <sup>3</sup> /г	$D \cdot 10^7$ , см <sup>2</sup> /с	$\delta$	$\eta_{\chi=0.1}$	$x_0$ , см	$t_0$ , мин	$CE$ , мин <sup>-1</sup>	$K_K$
Кверцетин	MC1	22	2.6	5	0.7	0.52	4.3	5.8	12
	MS1	4.9	6.5	10	0.6	0.53	1.2	5.6	2
	MQS1	15	4.2	5	0.7	0.47	2.6	6.3	8
Дигидро-кверцетин	MC1	20	2.3	5	0.7	0.51	3.8	5.8	11
	MS1	3.9	1.8	5	0.6	0.85	1.5	3.5	2
	MQS1	20	1.3	10	0.7	0.76	5.5	3.9	11
Нарингин	MC1	19	2.3	5	0.7	0.69	4.8	4.3	11
	MS1	14	1.8	5	0.8	1.18	6.2	2.5	9
	MQS1	44	1.3	10	0.8	0.30	5.9	10.1	25
Рутин	MC1	52	2.0	5	0.8	0.29	5.4	10.5	30
	MS1	39	0.68	10	0.7	0.64	11.4	4.7	20
	MQS1	154	0.52	10	0.8	0.21	14.9	14.3	90
	MK1	300	0.26	10	0.8	0.38	42.0	8.0	190

\* $\chi=0.1$ ,  $D=1 \cdot 10^{-7}$  см<sup>2</sup>/с. Обозначение сорбентов аналогично табл. 4.4.

Эффект возрастания эффективности сорбционного концентрирования на аналогах SBA-15, синтезированных с добавками флавоноидов, подавляется снижением вклада внутридиффузионного лимитирования. Можно отметить, что рост величины  $\delta$  (табл. 4.5) способствует максимальной полноте использования сорбционной емкости, что обеспечивает наибольшую эффективность сорбционного концентрирования аналитов с использованием наноструктурированных сорбентов. Несмотря на закономерное снижение коэффициентов диффузии для более объемных молекул гликозидов флавоноидов (табл. 4.5), более полное задействование сорбционных центров кремнезёмов обеспечивает общий рост коэффициентов концентрирования аналитов для материалов, синтезированных с добавками потенциальных сорбатов.

Кремнезем с кубической структурой МК1 (аналог КИТ-6) за счёт высокой плотности свободных силанольных групп и относительно низкой гидратации (раздел 3.2.1) позволяет достигать высокого коэффициента концентрирования рутина, равного 190 (табл. 4.5). Однако за счёт снижения коэффициента диффузии в два раза это не приводит к росту величины  $CE$  по сравнению с кремнеземом с гексагональной структурой мезопор и близким количеством сорбционных центров (MQS1).

#### 4.5 Десорбция флавоноидов из слоя упорядоченных кремнезёмов

Для повышения эффективности сорбционного концентрирования и разделения веществ важно рассматривать как стадию сорбции, так и десорбции [125]. Высокие коэффициенты концентрирования могут достигаться при десорбции компонентов малыми объемами растворителя. Отмеченное увеличение удерживания гликозидов флавоноидов по сравнению с агликонами позволяет проводить концентрирование из большего объема раствора, т. е. в более широком интервале концентраций (табл. 4.6), что позволяет проводить концентрирование из большего объема раствора без потерь аналита.

Таблица 4.6

Степень извлечения флавоноидов при концентрировании в слое сорбента из индивидуальных растворов

Кверцетин			Рутин		
$V, \text{ см}^3$	сорбент	$R, \%$	$V, \text{ см}^3$	сорбент	$R, \%$
2	MQS1	60	7	MS1	90
	MS1	100		MQS1	100
	MS1-Met	98		MS1-Met	82
	MQS1-Met	100		MQS1-Met	91
4	MS1	34	10	MS1	67
	MQS1	100		MQS1	100
	MS1-Met	63		MS1-Met	60
	MQS1-Met	98		MQS1-Met	66

Концентрация флавоноидов  $1.0 \cdot 10^{-5}$  М, масса сорбентов 0.1000 г.

Можно отметить, что наибольшее количество полифенолов десорбировалось при пропускании уже 1.0 см<sup>3</sup> растворителя через слой сорбента, удерживающего аналиты (табл. 4.7). При этом если в случае MS1 (аналога SBA-15) коэффициент концентрирования для кверцетина и дигидрокверцетина при десорбции меньше единицы, то для кремнезема MQS1, синтезированного в присутствии кверцетина, достигается 3-4 кратное увеличение коэффициентов концентрирования (табл. 4.4). Наиболее существенный рост коэффициентов концентрирования реализуется для гликозидов флавоноидов – рутина и нарингина (табл. 4.7).

Таблица 4.7

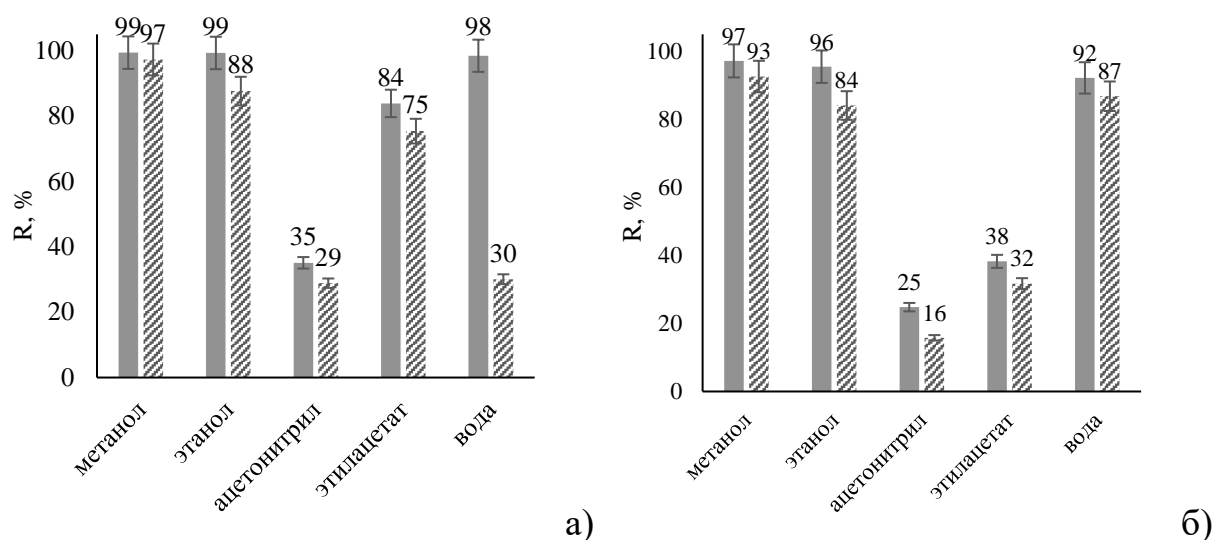
Параметры десорбции флавоноидов этанолом из слоя упорядоченных кремнезёмов

флавоноид	сорбент	$V_{80} \%, \text{ см}^3$	$V_{95} \%, \text{ см}^3$	$K_{\text{конц}}^*$
кверцетин	MS1	1.0	2.0	0.85
	MQS1	1.0	1.5	2.8
дигидрокверцетин	MS1	1.0	2.5	0.75
	MQS1	1.0	2.0	3.3
нарингин	MS1	1.5	5.0	2.2
	MQS1	1.0	3.0	6.8
рутин	MS1	1.0	3.0	6.4
	MQS1	1.5	4.0	28

Концентрация флавоноидов  $7.0 \cdot 10^{-5}$  М, масса сорбентов 0.2000 г.

При концентрировании полифенолов на картриджах, заполненных традиционными сорбентами, такими как силикагели, оксид алюминия, полимерные материалы, используют сорбенты с массой 200-700 мг, что приводит к значительному размыванию фронта сорбции, снижению эффективности сорбционного концентрирования [199]. Отмеченная ранее [41, 125] более высокая сорбционная ёмкость наноструктурированных кремнезёмов за счёт доступности сорбционных центров позволяет достигать аналогичной эффективности (числа теоретических тарелок) на слое в 2-5 раз меньше (раздел 4.3). С учетом этого концентрирование полифенолов проводили из индивидуальных ацетонитрильных растворов ( $c=1.0 \cdot 10^{-5}$  моль/л) на картриджах, заполненных 0.1000 г сорбента. Для изучения возможности разделения смесей веществ при десорбции и достижения

наиболее полного извлечения аналитов проводили элюирование флавоноидов растворителями разной полярности: метанолом, этанолом, этилацетатом, ацетонитрилом и дистиллированной водой (рис. 4.14).



**Рис. 4.14.** Степень извлечения кверцетина (а) и рутина (б) при концентрировании на аналогах SBA-15 (сплошные – MQS1, заштрихованные – MQS1-Met) при варьировании растворителя. Расчет при пропускании 1.0 см<sup>3</sup> растворителя через слой сорбента.

Растворимость исследуемых флавоноидов уменьшается в ряду растворителей этанол>метанол > ацетонитрил> этилацетат>вода [200]. В общем случае этому ряду должны соответствовать закономерности изменения величин степени извлечения при пропускании равных объемов этих растворителей через слой сорбента, удерживающего флавоноид. В некоторых случаях значительный вклад вносит способность растворителя к конкурентной адсорбции. Растворимость большинства флавоноидов в воде значительно ниже по сравнению с полярными органическими растворителями. В то же время выраженная адсорбция молекул воды на сорбционных центрах кремнеземов позволяет достигать сопоставимых степеней извлечения аналитов по сравнению со спиртами (рис. 4.14). Использование этилацетата также позволяет элюировать кверцетин после сорбции рассматриваемыми кремнеземами ( $R=75-84\%$ ), в отличие от рутина ( $R<40\%$ ). Высокая степень десорбции агликонов флавоноидов этим растворителем отмечена

в работе [61]. Авторами работы [201] показано, что при разделении флавоноидов на силикагеле в условиях тонкослойной хроматографии с ростом содержания этилацетата в подвижной фазе увеличивается удерживание гликозидов флавоноидов (рутина и нарингина) в слое сорбента. В целом особенности десорбции полифенолов органическими растворителями сохраняются для аналогов SBA-15 с разным числом и распределением свободных силанольных групп, а также на материалах, модифицированных триметилхлорсиланом.

Адсорбция полифенольных веществ кремнеземами происходит преимущественно со значительным вкладом за счет водородных связей между аналитами и силанольными группами на поверхности сорбента [180]. Кроме внешней поверхности у кремнезёмов с сопоставимыми и превышающими размер молекулы аналитов диаметром мезопор задействуется внутренняя поверхность мезопор. Модификация кремнезёмов приводит к варьированию сорбционных свойств за счет изменения механизма сорбции [180].

Прививка гидрофобных функциональных групп на поверхности кремнезёмов снижает возможность адсорбции воды [180]. Степень извлечения кверцетина при элюировании водой в этом случае составляет около 30 % (рис. 4.14), а степень десорбции рутинина остается высокой, достигая 90%. Это обусловлено снижением удерживания рутинина на обращенных фазах.

#### **4.6 Возможность повторного использования упорядоченных мезопористых кремнезёмов в ТФЭ**

Неупорядоченные силикагели, содержащие большое число свободных силанольных групп, затрудняют количественную десорбцию аналитов. Кроме снижения степени извлечения веществ (что отражается на точности анализа), это не позволяет повторно использовать картриджи в твердофазной экстракции. Напротив, механическая стабильность наноструктурированных материалов и высокая степень десорбции аналитов малыми объемами растворителя позволяет рассматривать возможность многократного использования картриджей,

заполненных аналогами SBA-15, для очистки и концентрирования определяемых компонентов в пробах. В литературе [90, 124] обычно оценивается только величина сорбционной емкости и не учитывается возможное изменение вида выходных кривых при последовательных циклах концентрирования.

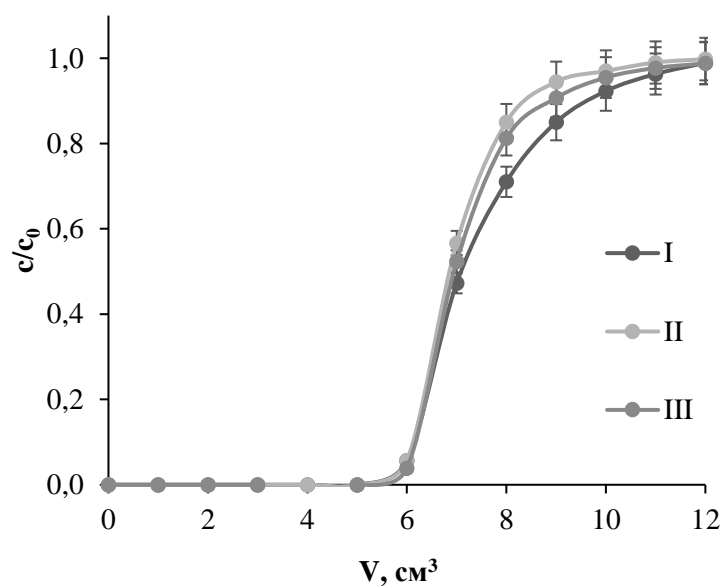
Регенерацию сорбентов и повторное использование картриджа для концентрирования флавоноидов проводили при сорбции рутина. Десорбцию анализа из фазы сорбента при этом осуществляли этанолом, поскольку он позволяет элюировать флавоноиды из слоя сорбента минимальными объемами (степень извлечения кверцетина и рутина составила 84-99 % при пропускании 1.0 см<sup>3</sup> через слой аналогов SBA-15). Кроме того, этанол по сравнению с ацетонитрилом, метанолом или этилацетатом не относится к высокотоксичным растворителям. С другой стороны, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH обладает достаточной полярностью и элюирующей способностью  $\varepsilon^{\circ}(SiO_2)$ , сопоставимой с метанолом (табл. 4.8) [202, 203]. Также стоит отметить, что этанольные экстракты полифенольных соединений применяются в фармацевтической и пищевой промышленности.

Можно отметить, что общий вид выходной кривой сорбции рутина сохраняется, включая пятый цикл, а также остается практически неизменной полная динамическая сорбционная емкость (рис. 4.15).

Таблица 4.8

Параметры полярности  $P'$  и элюирующей способности  $\varepsilon^{\circ}(SiO_2)$   
растворителей для ЖХ при 25°C [41,42]

Растворитель	$P'$	$\varepsilon^{\circ}(SiO_2)$
Ацетонитрил	5.8	0.60
Вода	10.2	1.50
Метанол	5.1	0.70
Этанол	4.3	0.60
Этилацетат	4.4	0.48



**Рис. 4.15.** Выходные кривые сорбции рутина из ацетонитрильного раствора ( $c=0.07$  мМ) кремнеземом QQS1-Met, полученные на одном картридже: 1 – первый цикл, 2 – второй цикл, 3 – третий цикл.

#### Заключение к главе 4

Поверхностные и структурные характеристики упорядоченных мезопористых кремнезёмов существенно зависят от условий синтеза. В свою очередь, это позволяет варьировать сорбционные свойства твердофазных материалов и получать наиболее подходящие сорбенты для выделения, очистки и концентрирования определенной группы веществ.

Отмечена немонотонная зависимость сорбционной емкости наноструктурированного кремнезёма по кверцетину от содержания воды в водно-ацетонитрильных растворах. Наиболее заметное снижение сорбционной емкости отмечено при увеличении содержания воды от 1 до 10 %. Разработан способ ИК-спектроскопического контроля содержания воды в ацетонитрильных растворах, позволяющая учитывать особенности влияния состава растворителя на селективность кремнезёмов при извлечении и концентрировании.

Показано, что синтез наноструктурированных сорбентов в присутствии кверцетина как потенциального аналита позволяет повысить сорбционную емкость упорядоченных кремнезёмов по отношению к флавоноидам при сорбционном

концентрировании из ацетонитрильных растворов. Это сопровождается ростом полноты использования сорбционной емкости «до проскока» от 0.6-0.7 до 0.7-0.8, что способствует повышению эффективности сорбционного концентрирования в 1.5-2 раза. Этот эффект может быть связан с увеличением вклада внутренней диффузии в кинетику сорбции полифенолов. Рассчитанные высота слоя сорбента и время сорбции позволяют снизить затраты на проведение концентрирования. За счет снижения потерь аналита при сорбции флавоноидов на упорядоченных кремнеземах может быть уменьшен вклад стадии пробоподготовки в общую погрешность анализа.

Показано, что особенности десорбции агликонов и гликозидов флавоноидов различаются при использовании растворителей разной полярности и элюирующей способности. При этом для достижения степени извлечения аналита из слоя сорбента выше 90% во многих случаях достаточно 1.0 см<sup>3</sup> растворителя. Это позволяет рассматривать синтезированные материалы в вариантах твердофазной экстракции при определении содержания полифенольных соединений в сложных матрицах.

## **Глава 5. Сорбционное извлечение, концентрирование и разделение полифенольных веществ на упорядоченных кремнеземах для определения флавоноидов**

Высокая селективность упорядоченных кремнезёмов, обусловленная малой дисперсией свойств, позволяет использовать их при извлечении, очистке, концентрировании, разделении для последующего определения флавоноидов в сложных многокомпонентных матрицах (экстрактах растительного сырья, биологически активных добавках). Однако ограничены экспериментальные исследования в этом направлении, поэтому необходимо накопление фактического материала по применению наноструктурированных кремнезёмов в вариантах ТФЭ при извлечении, очистке, концентрировании, разделении и определении полифенольных веществ.

Высокая эффективность сорбционного концентрирования, которая в случае наноструктурированных материалов достигается на малом слое сорбента, позволяет использовать кремнезёмы в различных вариантах ТФЭ, таких как матричное твердофазное диспергирование, дисперсионная ТФЭ и др. В литературе отмечено, что использование мезопористых кремнезёмов позволяет достигать удовлетворительных метрологических характеристик определения веществ за меньшее время анализа с существенным снижением необходимого объема пробы и расхода реактивов. Однако недостаточная селективность кремнезёмов, обусловленная идентичностью природы сорбционных центров, не позволяет проводить выделение только целевых веществ из многокомпонентных матриц.

В настоящем разделе рассмотрены особенности извлечения, концентрирования и разделение полифенольных веществ на аналогах SBA-15 в динамических условиях с учетом стадии десорбции. Селективность кремнезёмов по отношению к полифенолам рассматривали при концентрировании рутина в присутствии аскорбиновой кислоты и коричных кислот с разным числом гидроксильных групп. Рассмотрено использование аналогов SBA-15 при классической твердофазной экстракции, дисперсионной ТФЭ и при матричном

твердофазном диспергировании для определения флавоноидов в биологически активных добавках и экстрактах растительного сырья.

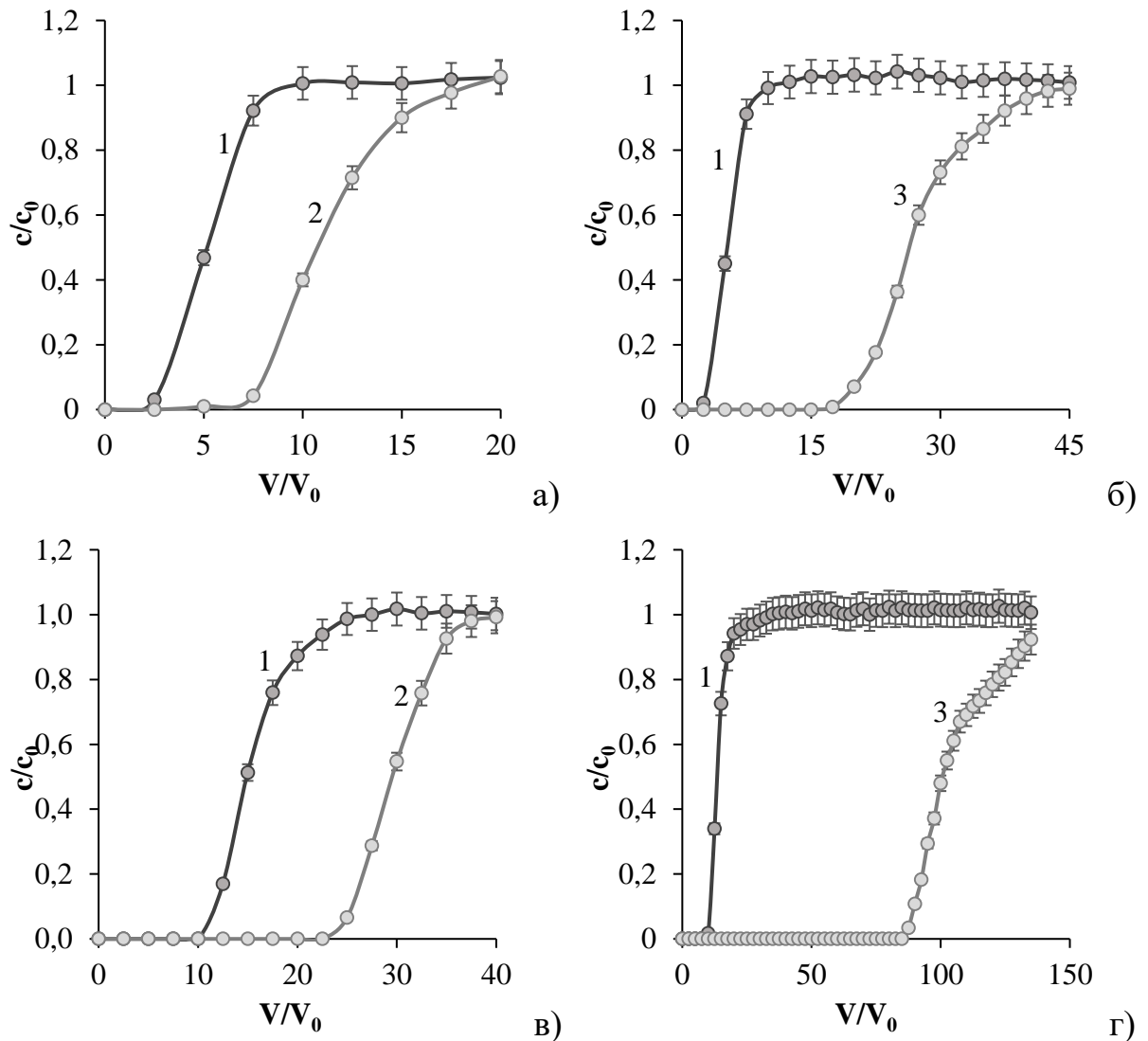
### **5.1 Упорядоченные кремнеземы в процессах разделения веществ с близкой структурой при жидкостной хроматографии низкого давления**

Разделение близких по физико-химическим свойствам веществ на стадии пробоподготовки в некоторых случаях позволяет отказаться от длительного определения хроматографическими методами. Вместо них можно использовать спектрофотометрическое определение с предварительным колоночным разделением аналитов. Данный вариант особенно важен при препаративном разделении ценных полифенольных веществ. Спектрофотометрия является неселективным методом анализа, т.е. не позволяет определять вещества в смеси с числом компонентов больше 3, обладающими схожими по структуре молекулами и хромофорными группами с близкими  $\lambda_{\max}$ . С учетом растущей погрешности совместного определения полифенольных веществ с увеличением количества компонентов смеси требуется их разделение. В то же время, спектрофотометрия позволяет проанализировать большое количество проб за короткое время (экспрессный анализ).

#### **5.1.1 Разделение флавоноидов на упорядоченных кремнеземах**

Высокоразвитая внешняя поверхность и узкие мезопоры кремнезёмов, аналогов МСМ-41, обуславливают близость величин факторов удерживания флавоноидов, рассматриваемых в настоящей работе (раздел 4.2.1). В то же время, за счет доступной поверхности мезопор и различия в селективности по отношению к агликонам и гликозидам, аналоги SBA-15 могут рассматриваться в качестве подходящих материалов для разделения полифенолов в динамических условиях [184]. Кроме того, изучение сорбции из бинарных растворов веществ с близкой структурой и физико-химическими свойствами позволит учесть их взаимное

влияние на вид выходных кривых, что особенно важно при использовании кремнеземов в твердофазной экстракции. В настоящей работе получены выходные кривые сорбции из бинарных ацетонитрильных растворов кверцетин-нарингин и кверцетин-рутин аналогами SBA-15 (рис. 5.1). Для кверцетина как менее удерживаемого компонента наблюдаются симметричные выходные кривые сорбции с быстрым достижением относительной концентрации  $c/c_0$ , равной 1.0.



**Рис. 5.1.** Выходные кривые сорбции кверцетина (1), нарингина (2) и рутина (3) на кремнеземах MS1 (аналог SBA-15, а, б) и MQS1 (аналог SBA-15 с молекулярными отпечатками кверцетина, в, г) из бинарных ацетонитрильных растворов.  $c=0.07$  мМ,  $m=0.2000$  г.

Для количественного описания разделения компонентов рассчитано разрешение хроматографических зон  $R_s$  по формуле (2.8). Известно, что в хроматографии величина разрешения, необходимая для проведения

количественного определения аналитов  $R_s \geq 1.0$ . В то же время, полное разделение аналитов, предполагающее отсутствие интерференции определяемых компонентов и способствующее повышению воспроизводимости определения разделяемых веществ, а также соответствующее наибольшей точности анализа достигается при  $R_s > 1.5$ . Как видно из табл. 5.1, полное разделение происходит только при использовании сорбента MQS1 при сорбции кверцетина и рутина. Подбор рациональных условий разделения позволит разделять и смеси кверцетина и нарингина, поскольку для указанных флавоноидов достигается достаточная селективность ( $\alpha = 3.6$  и  $2.2$  при разделении на кремнеземах MS1 и MQS1, соответственно).

Таблица 5.1

Параметры разделения флавоноидов при их сорбции из бинарных растворов\*

Смесь	$\alpha$		$R_s$	
	MS1	MQS1	MS1	MQS1
Кверцетин-нарингин	3.6	2.2	0.6	1.1
Кверцетин-рутин	10.2	9.2	1.6	3.4

\*концентрация флавоноидов  $0.07$  ммоль/дм<sup>3</sup>, масса сорбента  $0.2000$  г.

В таблице 5.2 приведены аналитические характеристики разделения флавоноидов из бинарных растворов с учетом стадии десорбции, которую проводили после пропускания раствора через слой сорбента до проскока более удерживаемого компонента (в обоих случаях гликозида). В разделе 4.5 отмечено, что закономерности элюирования рассматриваемых полифенолов этанолом из слоя кремнезёмов идентичны. В связи с этим разделение достигается за счёт стадии сорбции. Более существенное различие в объемах удерживания кверцетина и рутина позволяет достигать относительного коэффициента концентрирования гликозида, равного  $5.1-7.2$  (таблица 5.2). Для системы кверцетин-нарингин эта величина составляет  $1.3$  и  $1.8$  при разделении на кремнеземах MS1 и MQS1, соответственно. Использование растворителей с разной элюирующей способностью к флавоноидам (например, этилацетата, раздел 4.5) позволит достигать более полного разделения. Относительная погрешность

спектрофотометрического определения гликозидов флавоноидов после предварительного разделения на наноструктурированных кремнеземах не превышает 10% и может быть снижена до 3-5% при большем объеме растворителя для элюирования (раздел 4.5). Для кверцетина погрешность существенно выше (30-46% при сорбции в присутствии нарингина и 82-87% при определении в системе кверцетин-рутин).

Таблица 5.2

Аналитические характеристики разделения флавоноидов из бинарных растворов на сорбентах, аналогах SBA-15\*

Сорбент	Введено, ммоль/дм <sup>3</sup>	Найдено, ммоль/дм <sup>3</sup>		Δс/с, %		K <sub>отн</sub>
		кверцетин	нарингин	кверцетин	нарингин	
MS1	0.070	0.049	0.066	30	6.2	1.3
MQS1	0.35	0.19	0.33	46	4.6	1.8
		кверцетин	рутин	кверцетин	рутин	
MS1	0.280	0.050	0.25	82	9.2	5.1
MQS1	1.26	0.162	1.16	87	7.8	7.2

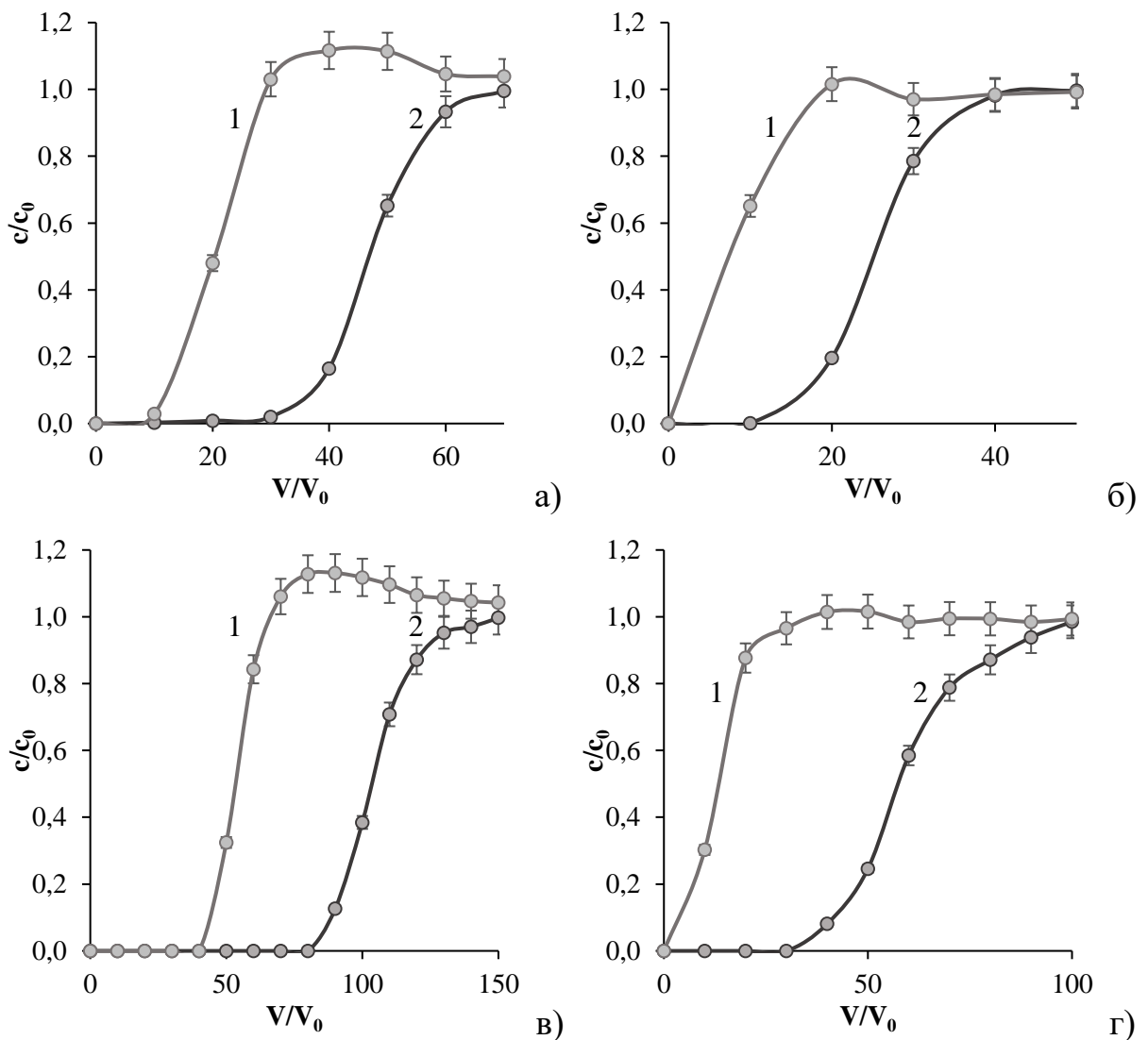
\*Расчет при пропускании объема раствора через слой сорбента до уровня проскока более удерживаемого компонента  $c/c_0=0.1$  и десорбции 1.0 см<sup>3</sup> этанола;  
K<sub>отн</sub> – относительный коэффициент концентрирования гликозида.

### 5.1.2 Разделение рутина и кофейной кислоты на аналогах SBA-15

Возможность разделения полифенолов разных групп рассматривали на примере рутина и кофейной кислоты. Оба соединения содержат в структуре полифенольный фрагмент с двумя гидроксильными группами в *o*-положении (рис. 2.1-2.2). Проскок кофейной кислоты происходит раньше рутина (рис. 5.2), что позволяет рассматривать синтезированные аналоги SBA-15 как подходящие материалы для разделения веществ с близкими свойствами. Метилирование кремнезёмов приводит к существенному снижению удерживания кофейной кислоты в слое сорбента (рис. 5.2 б, г). Коэффициент селективности, рассчитанный как отношение исправленных объемов удерживания (формула (2.9)), составляет

2.0-2.6 при разделении полифенолов на кремнеземах MS1 и MQS1, и увеличивается до 4.6-5.2 при сорбции на их метилированных аналогах (табл. 5.3).

В таблице 5.3 приведены коэффициенты концентрирования  $K_{\text{конц}}$  рутина (Rut) и кофейной кислоты (CfA), рассчитанные при десорбции минимальным объемом 96%-этанола ( $V = 1.0 \text{ см}^3$ ). Изменения в коэффициентах концентрирования обусловлены различием в удерживании полифенолов, а также в характере десорбции (рис. 5.3).

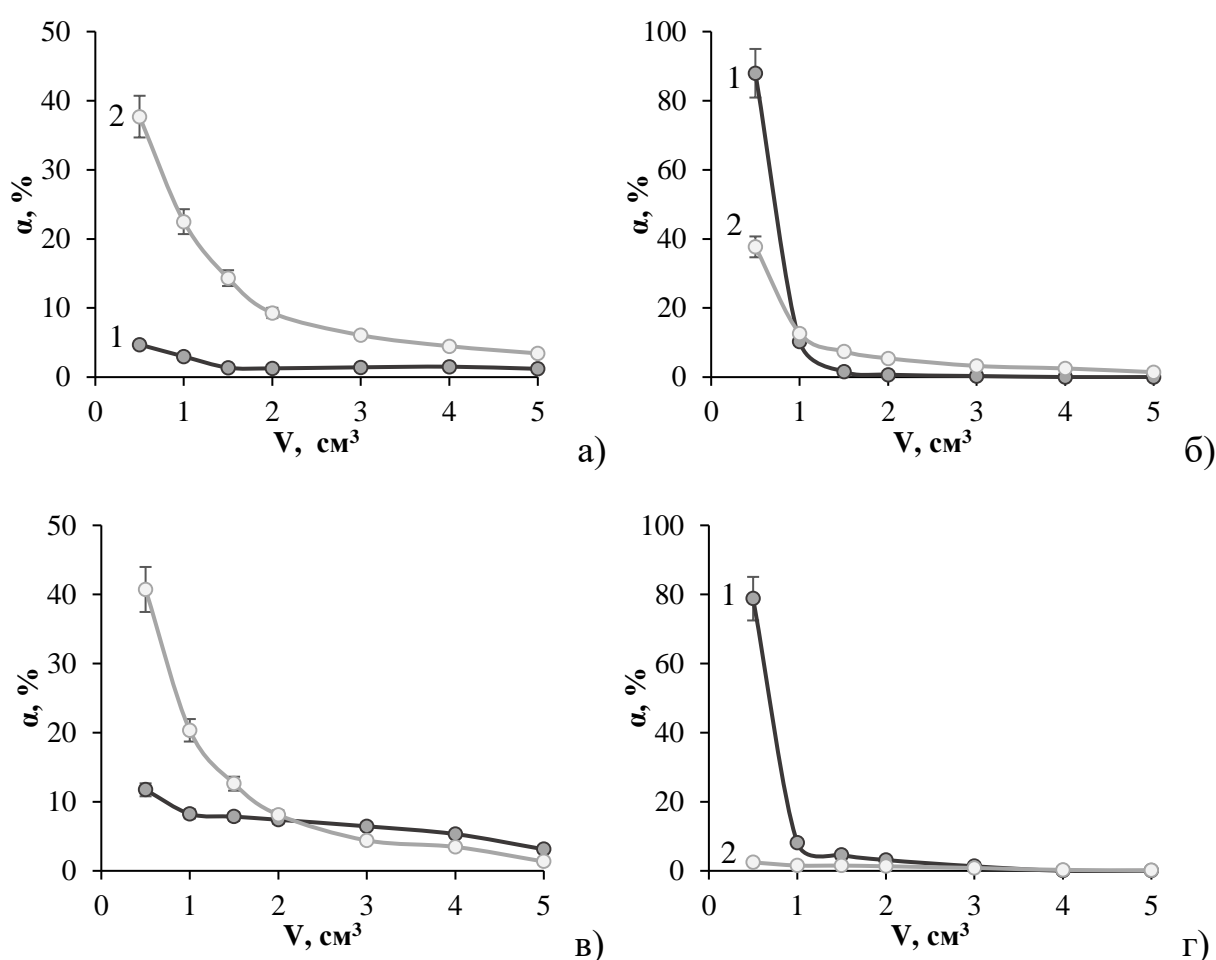


**Рис. 5.2.** Выходные кривые сорбции кофейной кислоты (1) и рутина (2) из бинарных ацетонитрильных растворов кремнеземами: а) MS1; б) MS1-Met; в) MQS1; г) MQS1-Met.

Селективность и коэффициенты концентрирования  $K_{\text{конц}}$  рутина (Rut) и кофейной кислоты (CfA) при сорбции из бинарных растворов

Сорбент	$\alpha$	$K_{\text{конц}}(\text{Rut})$	$K_{\text{конц}}(\text{CfA})$
MS1	2.6	4.2	0.8
MS1-Met	4.6	2.8	0.4
MQS1	2.0	9.6	1.9
MQS1-Met	5.2	6.5	-

\*невозможно рассчитать ввиду малой десорбции вещества.



**Рис. 5.3.** Выходные кривые десорбции рутина (1) и кофейной кислоты (2) из MQS1 (а, б) и MQS1-Met (в, г) ацетонитрилом (а, в) и 96%-этанолом (б, г).

Выше отмечено, что элюирование флавоноидов с достижением высоких степеней извлечения возможно спиртами и водой, в отличие от менее полярного ацетонитрила. В присутствии кофейной кислоты эти закономерности сохраняются.

Стоит отметить, что переход от ацетонитрила к этанолу сопровождается инверсией порядка элюирования рассматриваемых полифенолов (рис. 5.3): при использовании ацетонитрила десорбируется смесь рутина и кофейной кислоты, а в случае этанола – преимущественно рутин (степень извлечения при пропускании 1.0 см<sup>3</sup> 96%-этанола через слой сорбентов MQS1 и MQS1-Met составила 98 и 87 %).

В таблице 5.4 приведены аналитические характеристики определения рутина и кофейной кислоты после предварительного разделения их смеси на наноструктурированных кремнеземах. Использование ацетонитрила в качестве растворителя для элюирования не позволяет проводить определение целевых компонентов, поскольку для рутина степень извлечения из слоя сорбента составляет 7.7-20 %. Для повышения степени извлечения требуется большой расход растворителя.

Таблица 5.4

Аналитические характеристики разделения рутина (Rut) и кофейной кислоты (CfA) на сорбентах, аналогах SBA-15\*

Сорбент	Введено, моль/дм <sup>3</sup> ·10 <sup>5</sup>	Найдено, моль/дм <sup>3</sup> ·10 <sup>5</sup>		Δс/с, %		R, %	
		Rut	CfA	Rut	CfA	Rut	CfA
Десорбция ацетонитрилом							
MQS1	9.00	0.68	2.7	92	70	7.7	60
MQS1-Met	4.00	0.78	0.51	80	87	20	61
Десорбция этанолом							
MS1	3.50	3.28	0.98	6.2	72	97	71
MQS1	9.00	8.72	2.27	3.1	75	98	50
MS1-Met	1.50	1.34	0.07	11	96	92	16
MQS1-Met	4.00	3.40	0.03	15	99	87	4.0

Исходная концентрация компонентов раствора 0.01 мМ, масса сорбента 0.1000 г.

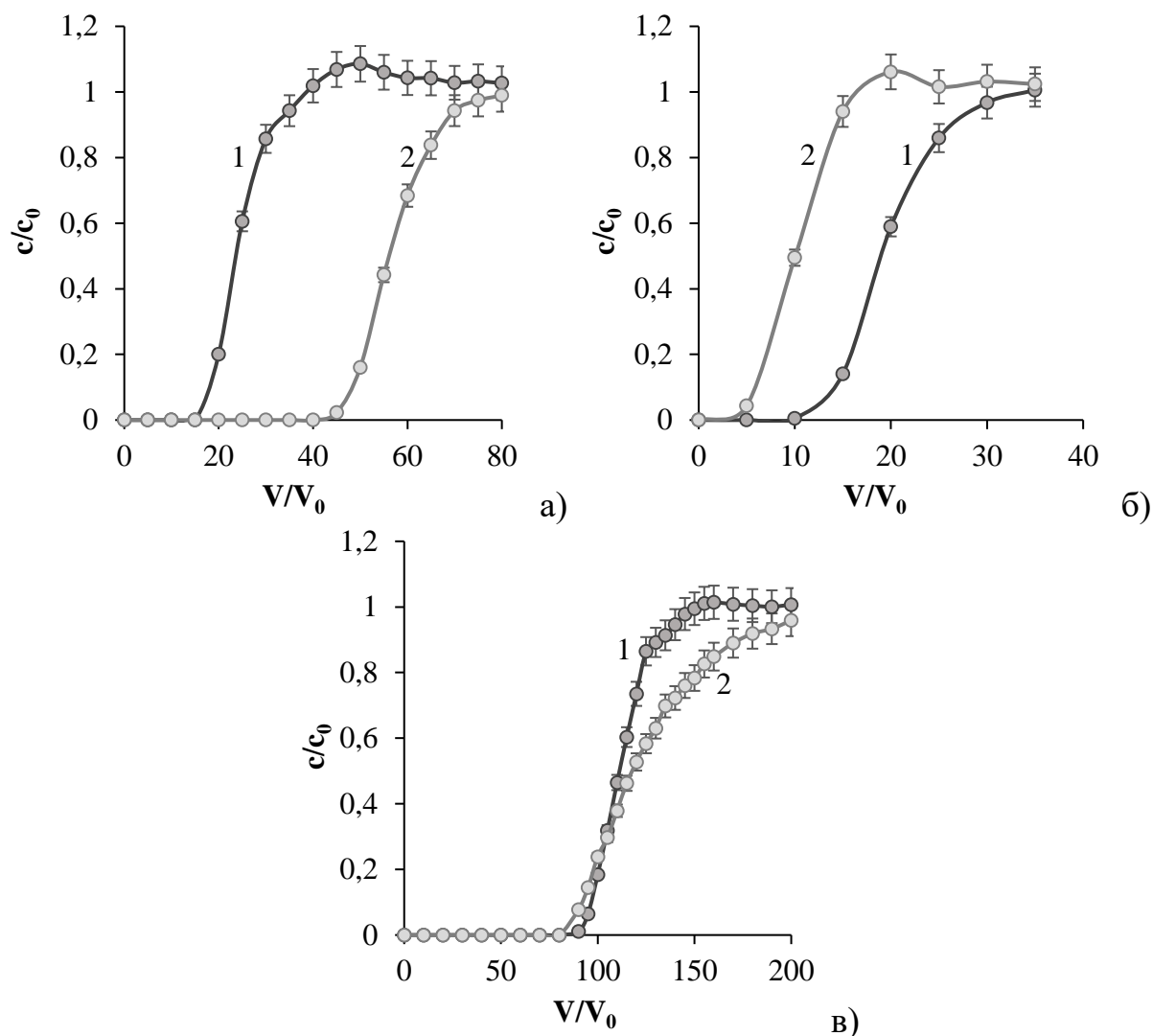
\*Расчет при пропускании объема раствора через слой сорбента до уровня проскока рутина  $c/c_0=0.1$ .

Здесь R – степень десорбции аналитов из слоя сорбента.

Как отмечено выше, при переходе к этанолу происходит существенное увеличение степени элюирования флавоноида. Однако при использовании сорбента MS1-Met наблюдается высокая погрешность спектрофотометрического определения как рутина, так и кофейной кислоты за счет малого удерживания веществ при пропускании исходного раствора через слой сорбента. Стоит отметить, что кремнезем MQS1-Met с большим остаточным количеством свободных силанольных групп позволяет проводить разделение рутина и кофейной кислоты для выделения индивидуального флавоноида (содержание кофейной кислоты в растворе после десорбции находится ниже минимально определяемой концентрации методом спектрофотометрии). Количественное определение рутина при наименьшем объеме растворителя для десорбции (1.0 см<sup>3</sup> этанола) с минимальной погрешностью достигается после разделения смеси на сорбенте с молекулярными отпечатками кверцетина MQS1 ( $\Delta c/c=3.1\%$ ). Выявленные закономерности о десорбции рассматриваемых полифенолов растворителями разной полярности и элюирующей способности позволяют выбирать условия пробоподготовки при анализе реальных объектов (рассмотрено в разделе 5.3.3).

### 5.1.3 Разделение рутина и аскорбиновой кислоты

В реальных объектах флавоноиды часто содержатся совместно с аскорбиновой кислотой. В работе рассматривали разделение аскорбиновой кислоты (AscA) и рутина. Можно отметить, что на кремнеземе MS1 сорбция AscA происходит в большей степени по сравнению с флавоноидом (рис. 5.4 а, кривая 2). При использовании кремнезема MQS4, синтезированного с добавками кверцетина (мольное соотношение при синтезе  $n(\text{SiO}_2):n(\text{Quer})=1.0:2.0 \cdot 10^{-5}$ ), наблюдается инверсия в порядке выхода разделяемых компонентов. В то же время, на кремнеземе MQS1 ( $n(\text{SiO}_2):n(\text{Quer})=1.0:1.0 \cdot 10^{-4}$ ) за счет увеличения плотности сорбционных центров эффект молекулярных отпечатков проявляется в снижении удерживания аскорбиновой кислоты относительно рутина по сравнению с кремнеземом без отпечатков.



**Рис. 5.4.** Выходные кривые сорбции рутина (1) и аскорбиновой кислоты (2) из бинарных растворов ( $c=0.07$  мМ) на кремнеземах: а) MS1; б) MQS4; в) MQS1.  $m=0.1000$  г.

Стоит обратить внимание на термодинамическую и кинетическую селективность, которая может достигаться на наноструктурированных материалах, особенно в динамических условиях. Использование мезопористых кремнезёмов с упорядоченной структурой дает возможность варьировать кинетическую селективность (различие в размывании фронта сорбции, изменение полной сорбционной емкости). В свою очередь, изменения в природе и удельной плотности сорбционных центров позволяют варьировать селективность кремнезёмов, как термодинамический параметр за счет различий в изменении свободной энергии адсорбции аналитов.

Изменение сорбционной селективности сорбентов, аналогов SBA-15, по отношению к целевым и примесным компонентам в зависимости от количества и распределения сорбционных центров позволяет рассматривать полученные твердофазные материалы при разделении веществ с близкой структурой для последующего определения флавоноида методом спектрофотометрии. В таблице 5.5 приведены аналитические характеристики определения рутина. Кремнезем MQS1 с максимальной плотностью свободных силанольных групп по данным ИК-спектроскопии (раздел 3.2.1) позволяет проводить определение рутина с относительной погрешностью определения, не превышающей 10% в широком интервале концентраций ( $0.7-7.0 \cdot 10^4$  моль/дм<sup>3</sup>). Стоит отметить увеличение относительного коэффициента концентрирования флавоноида в 6 раз на кремнеземе с молекулярными отпечатками кверцетина MQS4, для которого относительно немодифицированного аналога SBA-15 (образец MS1) количество доступных сорбционных центров сохраняется.

Таблица 5.5

Аналитические характеристики спектрофотометрического определения рутина после предварительного разделения его смеси с аскорбиновой кислотой на синтезированных упорядоченных кремнеземах

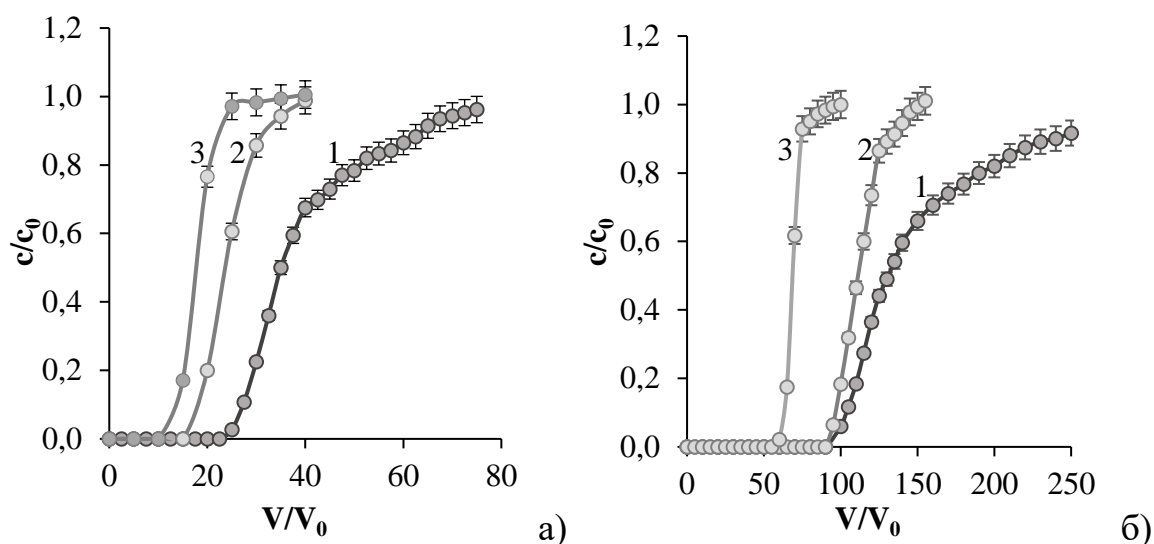
Сорбент	Введено, $c \cdot 10^5$ , моль/дм <sup>3</sup>	Найдено, $c \cdot 10^5$ моль/дм <sup>3</sup>	$\Delta c/c$ , %		$K_{отн}$
			Rut	AscA	
MS1	7.00	6.42	8.3	41	1.6
MQS1	7.00	6.43	8.2	63	2.5
MQS4	7.00	6.46	7.7	91	10.2
MS1	20.0	13.3	34	41	1.1
MQS1	20.0	18.5	7.4	62	2.5
MQS1	70.0	63.9	8.7	63	2.5

## 5.2 Селективность аналогов SBA-15 при динамическом сорбционном концентрировании флавоноидов

### 5.2.1 Концентрирование рутина в присутствии аскорбиновой кислоты

В разделе 4.4 отмечено, что при динамическом сорбционном концентрировании флавоноидов на аналоге SBA-15, синтезированном в присутствии кверцетина как потенциального аналита, достигается высокая эффективность концентрирования  $CE$ . Сорбционное концентрирование целевых веществ может осложняться в присутствии мешающих компонентов. Изучение сорбции полифенола в присутствии примесей проводили на примере рутина и аскорбиновой кислоты. Аскорбиновая кислота может использоваться для стабилизации полифенольных веществ, обладающих антиоксидантными свойствами. В свою очередь, указанное вещество имеет в своем составе полярные гидроксильные группы (рис. 2.3) и способно, с одной стороны, конкурировать с полифенолами за сорбционные центры, а с другой – способствовать изменению влияния гидратной воды на удерживание флавоноидов кремнеземами.

В случае использования аналога SBA-15, синтезированного в присутствии кверцетина, объем проскока рутина не изменяется при сорбции из бинарного раствора с равными концентрациями веществ (рис. 5.5). Вместе с тем, по сравнению с выходной кривой из индивидуальных растворов рутина, вид кривой заметно изменяется: кривая становится симметричной относительно  $c/c_0=0.5$ . Таким образом, добавки аскорбиновой кислоты способствуют проявлению единственного механизма удерживания полифенолов (адсорбция с участием силанольных групп), что заметно влияет на фронт сорбции флавоноида. Выходные кривые становятся более симметричными, что приводит к более полному использованию сорбционной емкости ( $\eta$  достигает 0.9). В свою очередь, это приводит к расширению диапазона концентраций флавоноида, в котором будет сохраняться высокая эффективность сорбционного концентрирования [204].



**Рис. 5.5.** Выходные кривые сорбции рутина из индивидуальных ацетонитрильных растворов (1) и в присутствии аскорбиновой кислоты (2 –  $c=0.07$  ммоль/дм<sup>3</sup>, 3 –  $c=0.35$  ммоль/дм<sup>3</sup>) на кремнеземах MS1 (а) и MQS1 (б). Концентрация рутина 0.07 мМ.  $m=0.1000$  г.

С учетом изменения коэффициентов диффузии флавоноида в присутствии аскорбиновой кислоты рассчитаны параметры сорбционного концентрирования (табл. 5.6). Эффективность концентрирования  $CE$  определяется вкладом диффузионных и равновесных параметров сорбции. В случае использования MS1 (аналога SBA-15) добавки аскорбиновой кислоты приводят к снижению  $CE$  на 30-40 % по сравнению с концентрированием из индивидуального раствора флавоноида. Также наблюдается значительное снижение максимального коэффициента концентрирования (табл. 5.6). При переходе к аналогу SBA-15, синтезированному в присутствии кварцетина, сохраняются большие значения коэффициентов концентрирования ( $K_K=50-80$ ). За счет повышения доли использованной сорбционной емкости без заметного снижения объемов удерживания остается высокой эффективность концентрирования рутина на кремнеземе, синтезированном в присутствии кварцетина. Это позволяет говорить о формировании «молекулярных отпечатков» на стенках мезопор кремнезема в условиях золь-гель синтеза с добавками потенциального аналита [204]. Появляется возможность использования синтезированных материалов в процессах твердофазной экстракции флавоноидов из многокомпонентных систем.

Параметры сорбционного концентрирования рутина в присутствии аскорбиновой кислоты на сорбентах, аналогах SBA-15\*

Сорбент	$c(\text{AscA})$ , ммоль/л	$\eta$	$D$ , $10^7$ см <sup>2</sup> /с	$CE$ , мин <sup>-1</sup>	$K_K$
MS1	0	0.70	1.8	4.3	20
	0.07	0.84	2.2	2.9	14
	0.35	0.90	2.8	2.7	11
MQS1	0	0.72	0.85	8.2	85
	0.07	0.87	1.1	8.0	80
	0.35	0.92	2.8	11	50

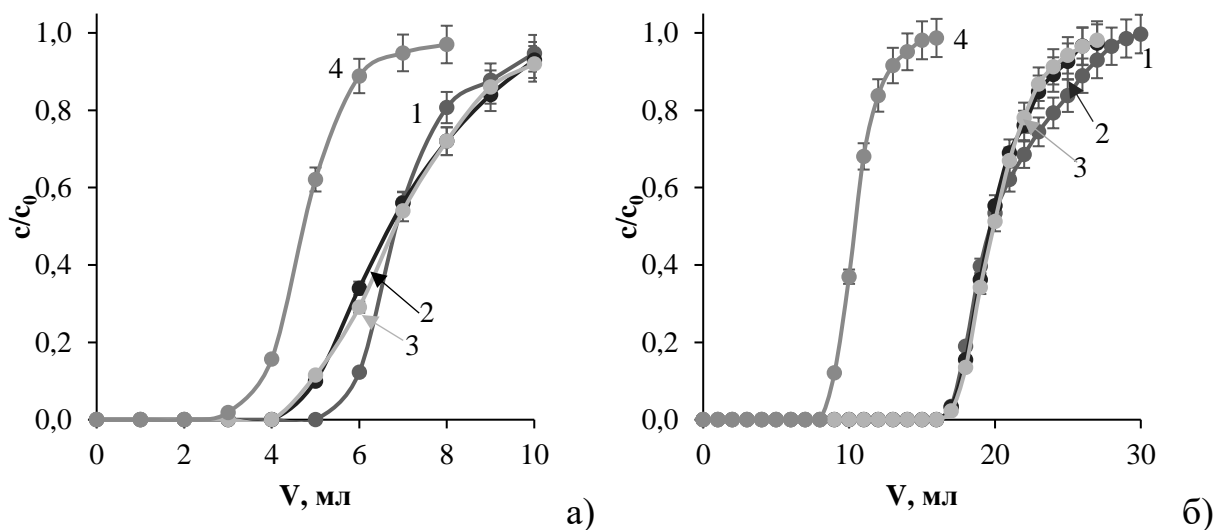
\*  $D=1 \cdot 10^{-7}$  см<sup>2</sup>/с,  $\delta=5$ ,  $\chi=0.1$ ,  $\eta=0.8$ .

### 5.2.2 Концентрирование рутина в присутствии коричных кислот с разным числом гидроксильных групп

Выше показано, что общие закономерности сорбционного концентрирования флавоноидов на аналогах SBA-15, в том числе с привитыми триметилсилильными группами, сохраняются при использовании твердофазных материалов с разным числом и природой сорбционных центров. Сорбционную селективность (как суперпозицию термодинамической и кинетической селективности) синтезированных кремнеземов рассматривали на примере концентрирования рутина в присутствии коричных кислот с разным числом гидроксильных групп. Выбор этих соединений для модельных растворов обусловлен их содержанием практически во всех растениях. Кроме того, в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ хроматографический пик рутина может накладываться на пики коричных кислот, что значительно ухудшает метрологические характеристики определения флавоноида. В связи с этим, требуется предварительная пробоподготовка (в том числе в вариантах ТФЭ) с разделением флавоноида и мешающих определению примесей.

При сорбционном концентрировании рутина в присутствии коричных кислот в варианте сорбции в динамических условиях (на колонке с высотой слоя

кремнезема 2.0 см и массой сорбента 0.1000 г при скорости пропускания раствора 0.2 см<sup>3</sup>/мин) прокок примесей происходит уже в первых фракциях пропущенного через слой сорбента раствора. Особенности распределения сорбционных центров на поверхности мезопор кремнезёмов, синтезированных в присутствии потенциального аналита, позволяют повысить селективность сорбентов по отношению к целевым компонентам. В случае SBA-15 (рис. 5.6 а) коричневые кислоты конкурируют за сорбционные центры с молекулами флавоноида, что выражается в размывании выходной кривой рутина в присутствии примесей (снижении числа теоретических тарелок (формула (4.1)) при относительных концентрациях  $c/c_0 < 0.5$ , табл. 5.7). Как уже отмечалось, материалы, синтезированные в присутствии потенциального аналита, характеризуются увеличением сорбционной емкости. В этом случае эффект размывания выходной кривой рутина при сорбции из бинарных растворов не проявляется (рис. 5.6 б), т.е. сохраняется достаточно высокая эффективность слоя сорбента (табл. 5.7). Присутствие кофейной кислоты, содержащей две ОН-группы, в обоих случаях приводит к снижению сорбционной емкости. Т.е. кофейная кислота и рутин удерживаются на одних сорбционных центрах, что подтверждает наличие отпечатков полифенольной группы на поверхности мезопор упорядоченного кремнезема MQS1.



**Рис. 5.6.** Выходные кривые сорбции рутина из индивидуального ( $c=0.01$  мМ) раствора (1) и в присутствии коричневых кислот (2 – коричневой, 3 – п-кумаровой, 4 – кофейной) на кремнеземах MS1 (а) и MQS1 (б).  $m=0.1000$  г.

Параметры эффективности хроматографических колонок при сорбции рутина мезопористыми сорбентами в присутствии коричных кислот

Добавка	Сорбент	$V_R$ , см <sup>3</sup>	$\sigma_{V/V_0}$		$N$ , т.т./м	
			$c/c_0 < 0.5$	$c/c_0 > 0.5$	$c/c_0 < 0.5$	$c/c_0 > 0.5$
Нет (индивидуальный раствор рутина)	MS1	6.86	0.78	1.60	2800	550
	MQS1	19.80	2.00	5.30	3700	400
Коричная кислота	MS1	6.73	1.48	2.28	640	230
	MQS1	19.70	1.71	3.20	4900	1300
п-Кумаровая кислота	MS1	6.84	1.59	2.02	570	320
	MQS1	19.90	1.81	2.77	4400	1800
Кофейная кислота	MS1	4.74	0.72	1.08	1500	590
	MQS1	19.90	1.27	1.62	2400	1400

\*Высота колонки 2.5 см, размер частиц сорбента 0.05-0.1 мм.

Подобно разделению рутина и кофейной кислоты, для снижения влияния матричных компонентов на метрологические характеристики методики определения рутина сначала пропускали ацетонитрил для элюирования коричных кислот, а затем 96%-ный этанол для десорбции флавоноида. В таблице 5.8 приведены аналитические характеристики спектрофотометрического определения рутина после его концентрирования из ацетонитрильных растворов в присутствии коричных кислот. При использовании MS1 (аналога SBA-15) коэффициенты концентрирования рутина в присутствии коричных кислот с разным числом фенольных гидроксильных групп сопоставимы между собой (табл. 5.8) и принимают значения 4.7-5.0. При использовании сорбента с большей плотностью сорбционных центров (MQS1) коэффициенты концентрирования рутина составляют 14.1-14.8 при сорбции из индивидуального раствора, а также в присутствии коричных кислот, не содержащих полифенольный фрагмент в структуре. В присутствии кофейной кислоты  $K_{\text{конц}}$  рассматриваемого флавоноида снижается до 9.9, что обусловлено конкурентной сорбцией полифенолов на сорбционных центрах.

Аналитические характеристики спектрофотометрического определения рутина после его концентрирования на синтезированных кремнеземах из индивидуальных растворов и в присутствии коричневых кислот

Добавка	Введено, $c \cdot 10^5$ моль/дм <sup>3</sup>	Найдено, $c \cdot 10^5$ моль/дм <sup>3</sup>	$\Delta c/c$ , %	$K_{\text{конц}}$	Введено, $c \cdot 10^5$ моль/дм <sup>3</sup>	Найдено, $c \cdot 10^5$ моль/дм <sup>3</sup>	$\Delta c/c$ , %	$K_{\text{конц}}$
MS1								
–	3.00	2.96	1.4	3.0	5.00	4.92	1.7	5.0
CnA		2.58	14	2.6		4.26	15	4.7
CmA		2.45	18	2.4		4.10	18	4.8
CfA		2.73	9.1	2.7		4.08	18	5.0
MQS1								
–	5.00	4.98	0.43	5.0	15.00	14.82	1.2	14.8
CnA		4.72	5.51	4.7		14.06	6.3	14.1
CmA		4.78	4.50	4.8		14.17	5.6	14.2
CfA		4.96	0.82	5.0		9.94	34	9.9

CnA- коричневая кислота. CmA – п-кумаровая кислота. CfA – кофейная кислота.

### 5.3 Варианты твердофазной экстракции при извлечении, очистке и концентрировании полифенольных соединений с использованием синтезированных упорядоченных кремнезёмов

При сорбционной очистке, концентрировании веществ на неупорядоченных сорбентах низкие скорость и недостаточно высокая полнота десорбции целевых веществ обусловлены кинетическими особенностями относительно более медленного процесса массопереноса в динамических условиях, механизмом удерживания аналита (с более высокой энергией связывания с сорбционными центрами и конкурентным влиянием сольватирующих молекул растворителей), а также медленным установлением сорбционного (распределительного) равновесия. Этих недостатков отчасти лишены варианты ТФЭ на кремнеземах с системой упорядоченных мезопор. Такие наноструктурированные сорбенты обеспечивают

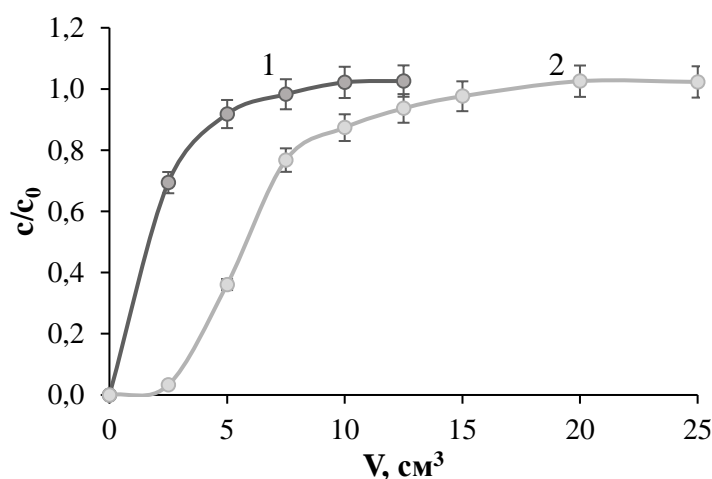
относительно более быстрый массоперенос сорбатов и меньшее время установления равновесия (иногда более чем на порядок) [125] за счет более развитой внешней поверхности и доступных сорбционных центров на поверхности мезопор.

### **5.3.1 Классическая твердофазная экстракция с использованием синтезированных сорбентов**

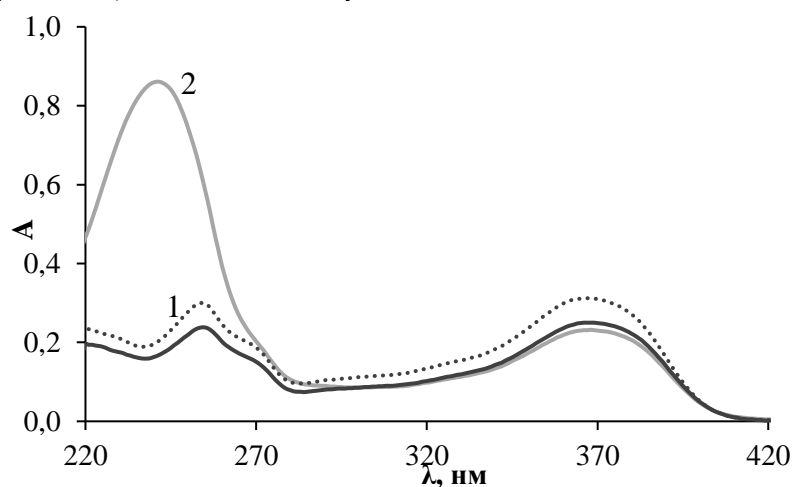
Твердофазная экстракция позволяет решать задачи очистки целевых веществ от мешающих определению примесей (относительное концентрирование) и увеличения концентрации определяемых компонентов в растворе (абсолютное концентрирование). Различие сорбционных свойств наноструктурированных кремнеземов по отношению к веществам с разными физико-химическими характеристиками позволяет рассматривать синтезированные аналоги SBA-15 как сорбенты в вариантах ТФЭ флавоноидов.

В разделе 5.1.3 показано, что увеличение плотности свободных силанольных групп аналога SBA-15, синтезированного в присутствии кверцетина, приводит к существенному росту сорбционной емкости при извлечении аскорбиновой кислоты. С учетом большего сродства аналогов SBA-15 к аскорбиновой кислоте по сравнению с кверцетином рассматривали очистку флавоноида при пропускании ацетонитрильного раствора биологически активной добавки «Цинк+D+C+кверцетин» через слой сорбентов (MS1 и его аналог, синтезированный в присутствии кверцетина MQS1). В первом случае наблюдается проскок кверцетина уже в первых фракциях пропущенного раствора (рис. 5.7, кривая 1). При переходе к MQS1 с большим числом свободных Si-OH-групп (см. раздел 3.2.1), сорбционная емкость возрастает по отношению ко всем компонентам раствора (рис. 5.7, кривая 2). Размывание на участке выходных кривых сорбции флавоноидов из индивидуальных растворов на участке  $c/c_0 > 0.5$  может приводить к значительным потерям аналита (раздел 4.4). Как показано в разделе 5.2.1, в присутствии аскорбиновой кислоты фронт сорбции флавоноида становится более

узким, то есть характеризует более высокую эффективность сорбционного слоя по отношению к аналиту. Можно отметить, что выходные кривые сорбции кверцетина из многокомпонентных растворов быстро достигают концентрации, близкой к исходной (рис. 5.7). Это позволяет за счет высокой эффективности наноструктурированных кремнеземов очищать большой объем раствора с получением индивидуального раствора флавоноида (рис. 5.8) при использовании меньшей массы упорядоченного кремнезема по сравнению с традиционно используемыми силикагелями. Указанный факт снижения массы сорбента кремнеземов аналогов SBA-15 позволяет использовать их в вариантах микротвердофазной экстракции [50, 52, 60, 205].



**Рис. 5.7.** Выходные кривые сорбции кверцетина из ацетонитрильного раствора препарата «Цинк+D+C+кверцетин»: 1 – на MS1; 2 – на MQS1.



**Рис. 5.8.** УФ-спектры поглощения ацетонитрильных растворов: 1 – кверцетин ( $c=0.05$  ммоль/л); 2 – исходный раствор биологически активной добавки «Цинк+D+C+кверцетин»; 3 – раствор препарата после пропускания  $5.0 \text{ см}^3$  через слой сорбента ( $0.200 \text{ г MQS1}$ ).

Высокая сорбционная емкость по отношению к примесным компонентам рассматриваемой биологически активной добавки позволяет проводить спектрофотометрическое определение кверцетина после очистки на картридже, заполненном наноструктурированными кремнеземами, без проведения стадии десорбции (рис. 5.8, табл. 5.9). Относительная погрешность определения кверцетина составила 7% после очистки на MS1 и 11% при использовании MQS1.

Таблица 5.9

Концентрация кверцетина в растворе биологически активной добавки «Цинк+С+D+кверцетин» до и после очистки на аналогах SBA-15

Сорбент	Исходная концентрация, ммоль/л	Концентрация после очистки, ммоль/л	$\Delta c/c$ , %	$s_r$
MS1	0.0770	0.0715	7	0.03
MQS1		0.0682	11	0.04

Более существенное удерживание гликозидов по сравнению с агликонами флавоноидов в слое синтезированных сорбентов, аналогов SBA-15, позволило определить рутин после предварительного концентрирования в слое сорбентов. Твердофазную экстракцию для концентрирования рутина с последующей десорбцией малыми объемами растворителя проводили из растворов препарата «Аскорутин», основные компоненты которого – рутин и аскорбиновая кислота. Относительная погрешность спектрофотометрического определения флавоноида составила 4.0-6.0% (табл. 5.10).

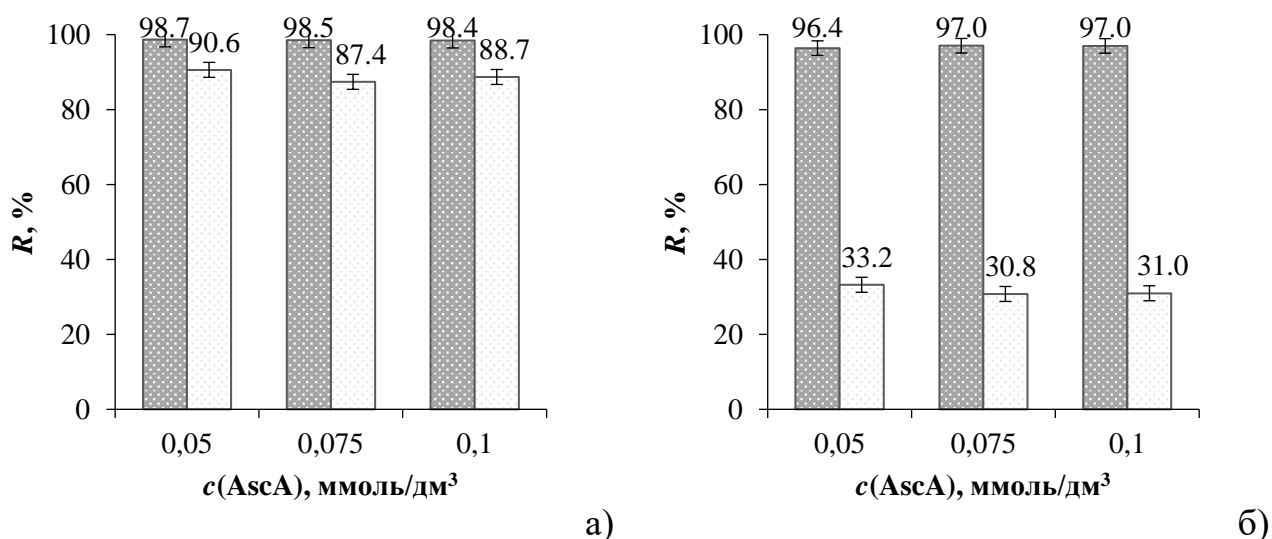
Таблица 5.10

Концентрация рутина в растворе препарата «Аскорутин» с ТФЭ на синтезированных мезопористых кремнеземах

Сорбент	Введено, мг	Найдено после ТФЭ, мг	$\Delta c/c$ , %	$s_r$
MS1	50	47±2	6.0	0.04
MQS1		48±2	4.0	0.05

### 5.3.2 Дисперсионная твердофазная экстракция

В разделе 4.1.3 показано, что при сорбции кверцетина из водно-ацетонитрильных растворов минимальная степень извлечения флавоноида мезопористыми кремнеземами достигается при содержании воды 10-20 об. % [185]. Это позволяет использовать синтезированные сорбенты в дисперсионной твердофазной экстракции, при которой происходит сорбция примесных компонентов. Дисперсионную экстракцию проводили на модельных растворах кверцетина и аскорбиновой кислоты в 90%-ном ацетонитриле. Под степенью извлечения в рассматриваемом варианте пробоподготовки понимали отношение концентрации вещества в растворе после д-ТФЭ к исходной концентрации. Как видно на рис. 5.9, присутствие воды приводит к незначительному извлечению кверцетина сорбентами (до 4%). При этом, несмотря на блокировку сорбционных центров гидратной водой, кремнеземом MQS1 извлекается 70% аскорбиновой кислоты.



**Рис. 5.9.** Степень извлечения кверцетина (темные столбцы) и аскорбиновой кислоты (светлые столбцы) при дисперсионной твердофазной экстракции из растворов в 90%-ном ацетонитриле мезопористыми кремнеземами а) MS1; б) MQS1.

Полученные результаты позволили использовать упорядоченные кремнеземы при д-ТФЭ раствора биологически активной добавки «Артоцин», в состав которой входят кверцетин (целевое вещество) и аскорбиновая кислота (примесный компонент) (табл. 5.11). При использовании немодифицированного сорбента MS1 состав пробы после пробоподготовки изменяется незначительно (относительный коэффициент концентрирования кверцетина составляет 1.1). При переходе к твердофазному материалу с молекулярными отпечатками кверцетина  $K_{отн}$  флавоноида после д-ТФЭ достигает 5.0. Аналогично модельным растворам, очистка пробы на мезопористом кремнеземе MQS1 позволяет определять кверцетин методом спектрофотометрии с относительной погрешностью определения, не превышающей 5%.

Таблица 5.11

Аналитические характеристики определения кверцетина в растворах препарата «Артоцин» с пробоподготовкой дисперсионной твердофазной экстракцией

Сорбент	Исходная концентрация, ммоль/дм <sup>3</sup>	Концентрация после д-ТФЭ, ммоль/дм <sup>3</sup>	$K_{отн.}$	$\Delta c/c, \%$	$s_r$
MS1	0.058	0.057	1.1	1.7	0.04
MQS1		0.056	5.0	4	0.03

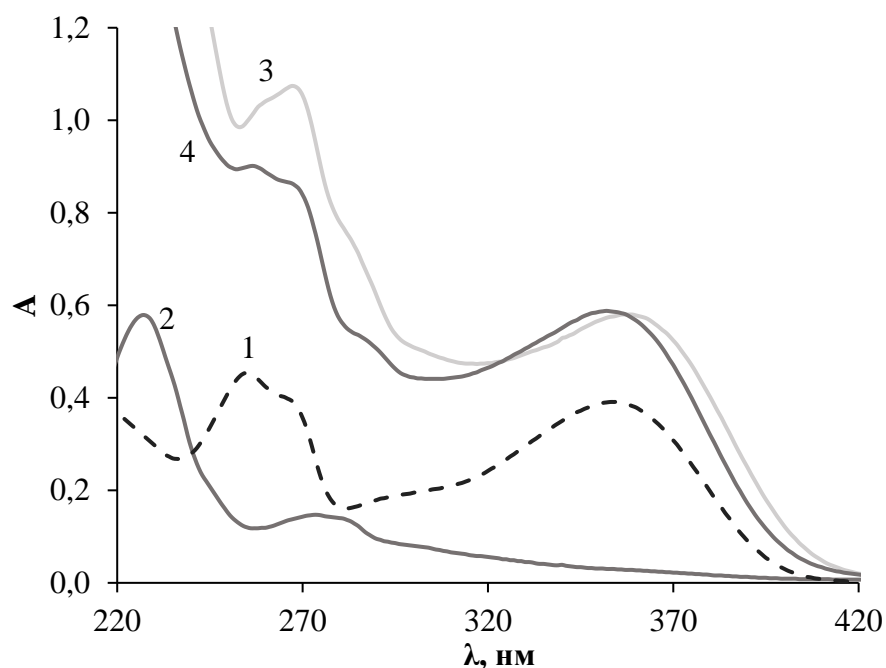
### 5.3.3 ТФЭ с использованием синтезированных упорядоченных кремнезёмов при извлечении, очистке полифенольных веществ и анализе растительных объектов

Первый этап пробоподготовки с классической ТФЭ включает извлечение компонентов пробы растворителями в различных вариантах экстракции. Авторами [155] показано, что наиболее быстрым и позволяющим достигать максимальной степени извлечения флавоноидов является экстракция 80%-ным метанолом под действием ультразвука при 60 °С. Однако известно [192], что в спиртах сорбция малополярных веществ, таких как флавоноиды, осложняется конкурентной

сорбцией растворителя. Для сорбционного концентрирования флавоноидов после их извлечения необходимо выпаривание смеси метанола и воды и растворение сухого остатка в ацетонитриле. Это делает пробоподготовку для последующего количественного определения полифенолов длительным процессом.

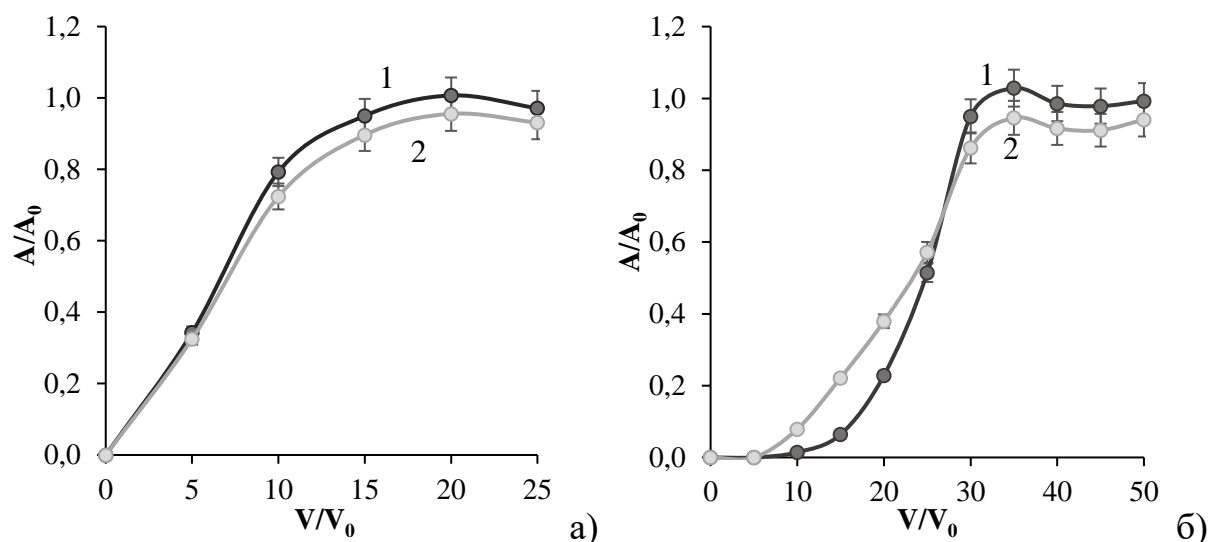
Многие флавоноиды характеризуются схожим видом спектров поглощения и близкими по величине молярными коэффициентами поглощения за счет идентичных хромофорных групп полифенольных веществ [10, 206, 207]. Это позволяет использовать метод спектрофотометрии для оценки суммарного содержания флавоноидов в многокомпонентных растворах [10]. На рисунке 5.10 приведены УФ-спектры поглощения электромагнитного излучения экстрактов соцветий липы в 96%-ном этаноле и ацетонитриле, полученных под действием ультразвука. Вид спектров указывает на возможность извлечения флавоноидов при использовании в качестве растворителя 96%-ного этанола. При переходе к ацетонитрилу в качестве растворителя для полифенольных веществ степень извлечения целевых компонентов, в целом, заметно снижается. Максимум поглощения (характеризующий наличие в молекуле аналита хромофорных групп) смещается до ~280 нм, т. е. при использовании менее полярного растворителя преимущественно извлекаются мешающие определению флавоноидов вещества, обладающие близкой по экстрагируемости этанолом и ацетонитрилом свойствами, но значительно отличающимися по виду спектров в УФ- и видимой области электромагнитного излучения.

Следовательно, для извлечения и последующего определения флавоноидов в этих условиях требуется большой расход растворителя, а пробоподготовка должна включать очистку и концентрирование пробы для возможности определения аналитов с удовлетворительными метрологическими характеристиками. С учетом закономерностей десорбции флавоноидов и коричневых кислот из слоя сорбента, рассмотренных в разделе 5.1.2, селективное элюирование целевых веществ может быть достигнуто при последовательном использовании нескольких растворителей.



**Рис. 5.10.** УФ-спектры поглощения электромагнитного излучения ацетонитрильным раствором рутина (1,  $c=0.07$  мМ) и растворами, полученными при экстракции из соцветий липы под действием ультразвука: 2 – ацетонитрилом, 3 – 96%-этанолом, 4 – 96%-этанолом с последующим выпариванием и растворением сухого остатка в ацетонитриле.

В разделе 4.1 отмечено увеличение объемов удерживания флавоноидов при переходе от кремнезема MS1 к его аналогу, синтезированному в присутствии кверцетина MQS1 (с молекулярными отпечатками аналита). С учетом данных ИК-спектроскопии (раздел 3.2.1, рис. 3.10), это достигается прежде всего за счёт увеличения числа сорбционных центров (свободных силанольных групп) и снижения гидратации сорбентов. Для рассмотрения селективности кремнезёмов получены выходные кривые сорбции ацетонитрильного экстракта липы на аналогах SBA-15 (рис. 5.11). Выходные кривые строили в координатах относительная оптическая плотность – относительный объем раствора, пропущенного через слой сорбента. Длины волн для построения кривых выбирали так, чтобы одна из них соответствовала максимуму поглощения рутина (355 нм), а вторая характеризовала присутствие примесей (270 нм).



**Рис. 5.11.** Выходные кривые сорбции ацетонитрильного экстракта липы на аналогах SBA-15: а) MS1, б) MQS1. 1 –  $A/A_0$  (270 нм), 2 –  $A/A_0$  (355 нм). Здесь  $A_0$  – величина оптической плотности, соответствующей плато на выходной кривой.

Вид выходных кривых позволяет предполагать возможность очистки флавоноидов на упорядоченном аналоге SBA-15, синтезированном в присутствии кверцетина как потенциального анализта. Этанол в этом случае является универсальным растворителем для элюирования, поскольку достигается наибольшая степень десорбции. После очистки полученного экстракта соцветий липы на кремнеземах вид спектров растворов остается неизменным, и как следствие, коэффициенты концентрирования, рассчитанные при двух рассматриваемых длинах волн, сопоставимы между собой (табл. 5.12). Для разделения анализтов и мешающих определению примесей требуется подбор условий десорбции.

Таблица 5.12

Коэффициенты концентрирования полифенольных веществ, полученные после ТФЭ ацетонитрильных экстрактов липы на аналогах SBA-15

Сорбент	$A/A_0$ (270 нм)	$A/A_0$ (355 нм)
MS1	1.3	1.1
MQS1	4.9	4.8

\*Десорбция 96%-этанолом ( $V=1.0$  мл)

Как отмечено выше (раздел 4.5), рост величин эффективности сорбционного концентрирования ( $CE$ ) при использовании наноструктурированного сорбента важен для увеличения аналитического сигнала за счет концентрирования аналита в единицу времени. Вместе с тем отсутствие экспериментальных выходных кривых и ряда параметров концентрирования не позволяет по литературным данным оценить параметр  $CE$ .

В табл. 5.13 приведены величины эффективности сорбционного концентрирования  $CE$ , а также оптимальные длина слоя сорбента  $x_0$  и время сорбции  $t_0$  (использованы уравнения 4.2, 4.3), полученные по выходным кривым сорбции ацетонитрильного экстракта компонентов соцветий липы в пересчете на рутин. Для кремнезема MS1 вследствие быстрого проскока веществ (рис. 5.11, кривая 1) величина  $CE$  составляет всего  $0.02 \text{ мин}^{-1}$ , а необходимая длина слоя сорбента достигает 150 см. При концентрировании с использованием твердофазного материала MQS1 за счёт увеличения величины  $CE$  до  $3.7 \text{ мин}^{-1}$  необходимая высота слоя сорбента для пробоподготовки с минимальными потерями аналита составляет 0.8 см, что соответствует  $\sim 50$  мг упорядоченного кремнезема. Таким образом, синтезированный материал может быть использован при микротвердофазной экстракции для очистки пробы на колонке, заполненной сорбентом.

Таблица 5.13

Параметры сорбционного концентрирования компонентов экстракта липы в пересчете на рутин мезопористым кремнеземом MQS1

Сорбент	$CE, \text{ мин}^{-1}$	$x_0, \text{ см}$	$t_0, \text{ мин}$
MS1	0.02	150	7.8
MQS1	3.7	0.80	6.2

### 5.3.3.1 Матричное твердофазное диспергирование

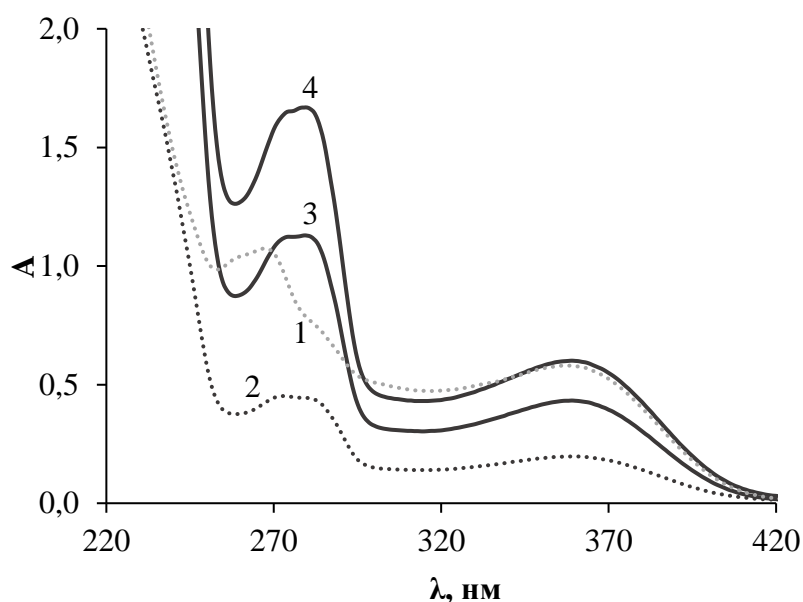
Современные варианты твердофазной экстракции направлены на сокращение времени пробоподготовки, снижения объема пробы, сорбентов и

растворителей. Одним из таких вариантов является матричное твердофазное диспергирование (МТФД), которое предполагает объединение извлечения компонентов и очистки пробы [208]. В этом варианте пробоподготовки полнота извлечения аналитов определяется доступной внешней и внутренней поверхностью мезопор. Для наноструктурированных сорбентов, SBA-15 и аналогов с мезопорами большего размера (5-10 нм), удерживание аналитов в значительной степени происходит на сорбционных центрах внутри мезопор, что сказывается на кинетике сорбции [52]. В то же время, для полифенольных веществ, а также для многообразия реальных объектов, в которых требуется определение флавоноидов, применение данного метода практически не изучено.

В настоящей работе матричное твердофазное диспергирование использовали для извлечения флавоноидов из соцветий липы [209]. Выше отмечено, что сложности количественного определения рутина методом ВЭЖХ связаны с присутствием в растительных образцах различных примесей, для которых характерно слабое удерживание на обращенно-фазовых колонках. Использование упорядоченных мезопористых материалов как сорбентов на стадии пробоподготовки позволяет проводить очистку сложных смесей для последующего хроматографического определения. Рутин характеризуется временем удерживания ( $t_R=4.8$  мин.), близким к мертвому времени ( $t_m=3.2$  мин.). Это затрудняет его определение в сложных матрицах, поскольку варьирование условий хроматографирования не позволяет достигать разделения с некоторыми мало удерживаемыми примесями.

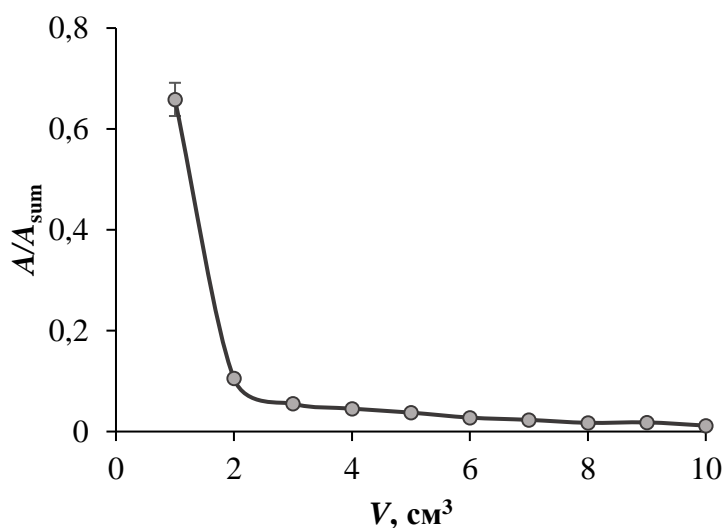
*Выбор растворителя для элюирования.* Первый этап матричного твердофазного диспергирования состоит в истирании пробы с сорбентом в однородную массу, которую переносили в картридж для твердофазной экстракции [47]. Возможность повышения степени извлечения полифенолов при МТФД по сравнению с ультразвуковой экстракцией рассматривали с использованием 96%-ного этанола. Можно отметить, что в зависимости от способа экстракции меняется вид спектров поглощения в области длин волн 250-300 нм (рис. 5.12). Это указывает на изменение состава экстракта. Оптическая плотность для растворов

аналитов во всем диапазоне длин волн возрастает в ряду растворов: полученный пропуская растворитель через слой образца без сорбента < после диспергирования на кремнеземе MS1 < после диспергирования на кремнеземе MQS1. Можно полагать, что рост числа сорбционных центров способствует более полному распределению компонентов образца на сорбентах. Значительное повышение степени извлечения компонентов пробы при переходе от экстракции под действием ультразвука позволяет рассматривать в качестве элюента ацетонитрил для последующей сорбционной очистки на упорядоченных кремнеземах – аналогах SBA-15.

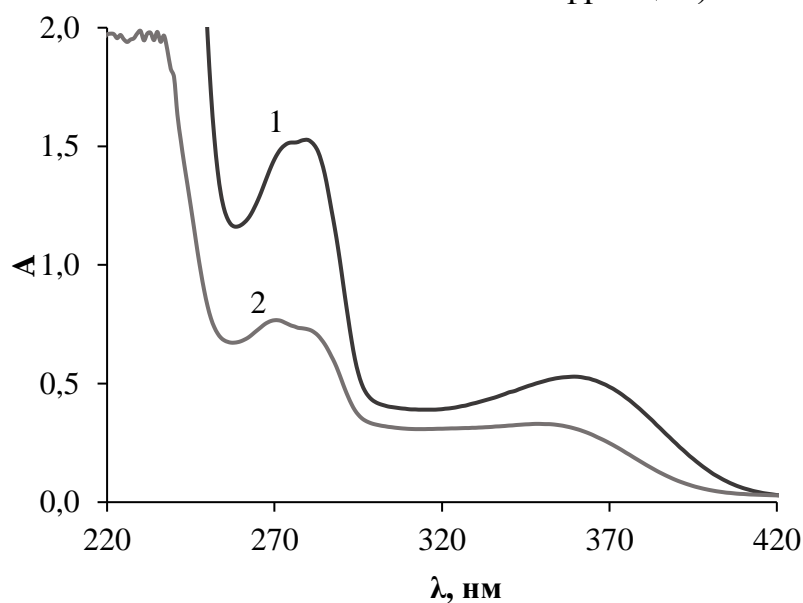


**Рис. 5.12.** Спектры поглощения УФ- и видимого электромагнитного излучения этанольными экстрактами соцветий липы: 1 – УЗ-экстракция; 2-4– полученный при МТФД (2 – без сорбента, 3 – с использованием MS1, 4 – MQS1).

Выходные кривые извлечения веществ, содержащихся в соцветиях липы представлены на рис. 5.13. Извлечение большей части полифенольных веществ происходит при пропускании минимальных количества растворителя (~1 см<sup>3</sup>); дальнейшее пропускание растворителя через колонку приводит преимущественно к разбавлению пробы.



**Рис. 5.13.** Выходная кривая извлечения полифенолов из соцветий липы этанолом ( $\lambda=355$  нм,  $A$  – оптическая плотность  $i$ -й фракции,  $A_{sum}$  – сумма величин оптической плотности всех фракций).



**Рис. 5.14.** Спектры поглощения УФ- и видимого электромагнитного излучения этанольным (1) и ацетонитрильным (2) экстрактами соцветий липы, полученными при МТФД с использованием сорбента MQS1.

В разделе 5.3.3 показано, что при жидкостной экстракции ацетонитрилом под действием ультразвука извлекаются преимущественно соединения, для которых отмечен нехарактерный для многих флавоноидов УФ-спектр поглощения. Полифенольные соединения экстрагируются этанолом, однако при последующей очистке пробы на картриджах, заполненных кремнеземами в качестве сорбента, вследствие блокировки сорбционных центров молекулами растворителя осложняется очистка пробы. В то же время, при МТФД варьирование природы

растворителя не оказывает существенного влияния на качественный состав полученного раствора (рис. 5.14). Это позволило проводить извлечение компонентов пробы ацетонитрилом.

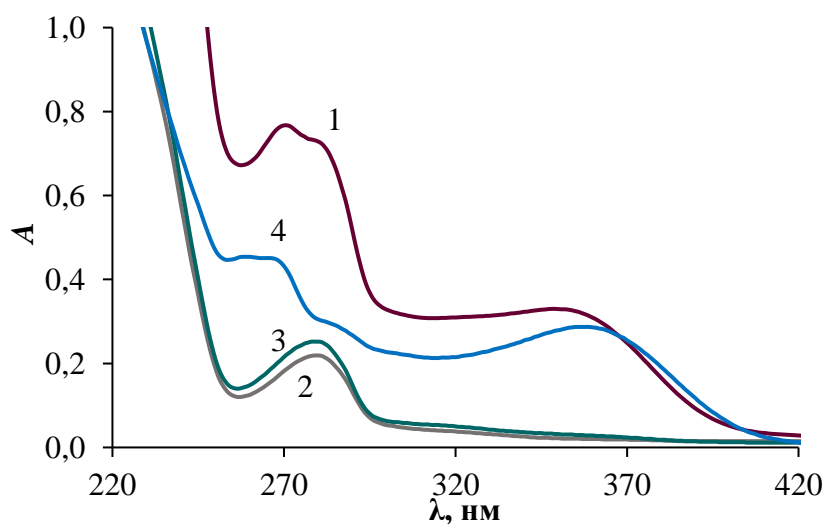
#### *Выбор растворителей для десорбции*

Следующий этап пробоподготовки состоял в очистке пробы в варианте микротвердофазной экстракции на колонке, заполненной 50.0 мг сорбента MQS1. Выше показано (раздел 5.3.3), что такого количества сорбента достаточно для использования на стадии пробоподготовки в динамических условиях.

Как было показано выше, этанол может рассматриваться при десорбции полифенольных соединений. В то же время, с одной стороны, этанол среди применяемых растворителей характеризуется средней полярностью и высокой растворяющей способностью по отношению к анализам (полифенольным веществам). С другой стороны, по данным [202, 203], он отличается одной из максимальных величин элюирующей способности  $\varepsilon^\circ(\text{SiO}_2)=0.60$ . Более высокими или равными значениями обладают только вода ( $\varepsilon^\circ(\text{SiO}_2)=1.50$ ), метанол ( $\varepsilon^\circ(\text{SiO}_2)=0.70$ ) и ацетонитрил ( $\varepsilon^\circ(\text{SiO}_2)=0.60$ ). Метанол по понятным причинам не может быть использован для десорбции флавоноидов из слоя сорбента. В воде многие полифенольные вещества характеризуются недостаточно высокой растворимостью. По данным работы [200] растворимость рутина в воде на 2-3 порядка ниже по сравнению с наиболее часто использующимися органическими растворителями. Применение ацетонитрила, наряду с удовлетворительными величинами полярности  $P'$  и элюирующей способностью  $\varepsilon^\circ(\text{SiO}_2)$  близкой к этанолу, обусловлено применимостью данного растворителя в жидкостной хроматографии благодаря минимальной вязкости [210].

В связи с этим, десорбцию проводили последовательно 1.0 см<sup>3</sup> ацетонитрила и 96%-этанола. При пропускании через колонку ацетонитрила извлекались примеси с максимумом поглощения 280 нм, при этом флавоноиды оставались в колонке (рис. 5.15). Последующее элюирование рутина и веществ с близкими к нему спектральными характеристиками проводили 96%-этанолом.

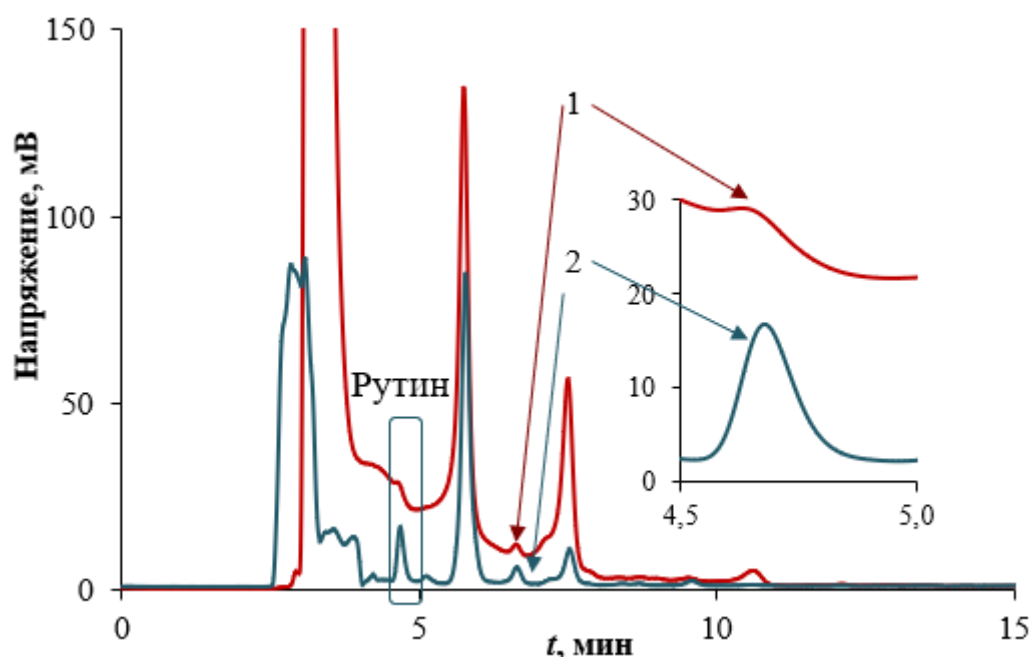
Извлечение веществ из растительного сырья матричным твердофазным диспергированием с последующей очисткой пробы микротвердофазной экстракцией позволяет снизить матричные эффекты при определении флавоноидов методом ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием [209]. Как видно на рис. 5.16, хроматографические пики рутина, а также веществ, имеющих близкий вид спектров поглощения, имеют симметричный профиль, что позволяет определять полифенолы с улучшением метрологических характеристик.



**Рис. 5.15.** Спектры поглощения экстракта липы: 1 – полученного МТФД с использованием MQS1; 2 – после пропускания через слой сорбента MQS1; 3 – полученного при десорбции ацетонитрилом из слоя сорбента; 4 – полученного после десорбции этанолом из слоя сорбента.

Как видно на рис. 5.16, определение рутина ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием в экстракте без очистки пробы затрудняется наложением хроматографических пиков примесных компонентов. После пропускания полученного раствора через слой сорбента с молекулярными отпечатками кверцетина и проведением десорбции ацетонитрилом и этанолом происходит существенное снижение матричных эффектов. В результате хроматографический пик рутина достигает базовой линии аналогично определению аналита в модельных растворах. Использование наноструктурированного кремнезема при извлечении веществ из соцветий липы МТФД с очисткой пробы микротвердофазной экстракцией позволило рассчитать содержание рутина в

анализируемом объекте, которое составило 1.37 мкг/г с относительным стандартным отклонением, равным 4% (таблица 5.14).



**Рис. 5.16.** Хроматограммы экстрактов липы, полученных извлечением матричным твердофазным диспергированием (1) и после очистки твердофазной экстракцией (2). Длина волны детектирования – 355 нм.

Таблица 5.14

Результаты определения рутина в соцветиях липы методом ВЭЖХ с пробоподготовкой твердофазным матричным диспергированием

$C_{\min}$ , моль/дм <sup>3</sup>	$\Delta c/c$ , %	Содержание рутина, мкг/г	$S_r$
$1.7 \cdot 10^{-6}$	4	$1.37 \pm 0,08$	0.02

### Заключение к главе 5

Показана возможность спектрофотометрического определения веществ с близкой структурой и физико-химическими свойствами после предварительного разделения на сорбентах, аналогах SBA-15, в том числе с молекулярными отпечатками полифенолов, а также модифицированных триметилхлорсиланом. Разделение агликонов и гликозидов флавоноидов происходит за счет различия факторов удерживания. В случае флавоноидов и фенольных кислот более полное

разделение (до 99%) компонентов достигается за счет подходящих условий десорбции. Разделение рутина и аскорбиновой кислоты реализуется на наноструктурированных материалах с молекулярными отпечатками кверцетина вследствие снижения удерживания примесного компонента по сравнению с немодифицированными сорбентами.

Показана универсальность синтезированных наноструктурированных сорбентов на стадии пробоподготовки, которые могут быть использованы как при классической ТФЭ, так и в современных ее вариантах, направленных на миниатюризацию и сокращение времени анализа. Предложен способ определения флавоноидов в фармацевтических препаратах. Определение кверцетина основано на дисперсионной ТФЭ из водно-ацетонитрильного раствора (с содержанием воды 10 об.%). Для флавоноида отмечено минимальное извлечение слоем сорбента (3-4%), в то время как аскорбиновая кислота в качестве примесного компонента сорбируется со степенью извлечения 70-80%, что позволяет проводить спектрофотометрическое определение кверцетина с относительной погрешностью определения, не превышающей 5%.

Предложен способ определения флавоноидов в растительных объектах. Показано, что извлечение веществ, содержащихся в соцветиях липы, твердофазным матричным диспергированием с последующей очисткой пробы на микроколонке позволяет проводить определение рутина методом ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием. При этом масса образца и сорбента, используемого на стадии диспергирования и микро-ТФЭ составляет 50 мг. Стоит отметить, что вследствие существенного мешающего влияния примесных компонентов определение указанного флавоноида в растительном образце невозможно.

Таким образом, использование на стадиях пробоподготовки (с ТФЭ) упорядоченных кремнеземов позволяет на последующих стадиях определения более существенно снижать уровень шумов аналитического сигнала за счет удаления примесных веществ, мешающих определению, и расширять диапазон определяемых концентраций целевых компонентов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что использование впервые синтезированных сорбентов в процессах твердофазного концентрирования флавоноидов в динамических условиях позволяет достигать более высокой эффективности сорбционного концентрирования по сравнению с традиционными неупорядоченными твердофазными материалами, а также наноструктурированными кремнеземами без молекулярных отпечатков полифенолов. Это позволяет рассматривать синтезированные материалы в вариантах твердофазной экстракции для улучшения метрологических характеристик определения веществ за счёт более высокой эффективности слоя сорбента при пробоподготовке с меньшими потерями аналитов.

По результатам работы сформулированы следующие выводы:

1. Предложен способ синтеза мезопористых кремнезёмов с молекулярными отпечатками флавоноидов на основании зависимости дисперсности и размера мицелл шаблона от температуры и мольного соотношения компонентов раствора. Методом ИК-спектроскопии подтверждено формирование упорядоченной матрицы силиката полученных сорбентов. Отмечено, что добавки потенциальных аналитов на стадии синтеза (при мольном соотношении компонентов реакционной смеси  $1.0 \text{ SiO}_2 : 0.005 \text{ P123} : 1.0 \cdot 10^{-4} \text{ флавоноид} : 0.4 \text{ EtOH}$ , где флавоноид – кверцетин или дигидрокверцетин) приводят к повышению плотности сорбционных центров, что позволяет увеличить полноту извлечения аналитов, эффективность их концентрирования и улучшить воспроизводимость результатов определения полифенолов.

2. Показано, что наноструктурированность кремнезёмов позволяет существенно повысить степень извлечения флавоноидов по сравнению с неупорядоченными материалами и увеличивается в ряду сорбентов, аналогов SBA-15 < KIT-6 < MCM-41. При синтезе аналогов SBA-15 с молекулярными отпечатками флавоноидов достигается близкая к MCM-41 сорбционная ёмкость ( $Q=2.6$  и  $3.5$  мкмоль/г, соответственно), что позволяет использовать полученные твердофазные

материалы при пробоподготовке в динамических условиях с последующим определением аналитов с улучшением метрологических характеристик.

3. Показано, что на сорбентах, аналогах SBA-15, достигается высокая эффективность сорбционного концентрирования ( $CE$  до 15 мин<sup>-1</sup>) полифенолов, которая сохраняется на сорбенте с молекулярными отпечатками аналитов при концентрировании флавоноидов в присутствии мешающих компонентов. За счет снижения потерь аналита при концентрировании флавоноидов на упорядоченных кремнеземах может быть уменьшен вклад стадии пробоподготовки в общую погрешность анализа.

4. Показана возможность спектрофотометрического определения гликозидов флавоноидов с предварительным разделением компонентов пробы на наноструктурированных кремнеземах с молекулярными отпечатками кверцетина и модифицированных триметилхлорсиланом. Относительная погрешность спектрофотометрического определения рутина после очистки от примесных компонентов с близкой структурой и физико-химическими свойствами (коричных кислот) не превышает 10%.

5. Показано существенное влияние содержания воды в ацетонитрильных растворах на сорбционное извлечение веществ с близкой структурой. В условиях дисперсионной твердофазной экстракции из ацетонитрильного раствора с содержанием воды 10 об. % степень извлечения кверцетина кремнеземом MQS1 составляет 96.4-97.0 %, в то время как для аскорбиновой кислоты в качестве примесного компонента величина  $R$  достигает 30.8-33.2 %. Это позволило проводить определение кверцетина в биологически активных добавках. В препарате «Артоцин» относительная погрешностью определения кверцетина не превышает 5 % после очистки пробы от аскорбиновой кислоты при пробоподготовке с дисперсионной ТФЭ на кремнеземе MQS1, синтезированном в присутствии кверцетина.

6. Показана возможность определения веществ с относительно низким содержанием в растительном сырье после пробоподготовки на синтезированных кремнеземах при извлечении матричным твердофазным диспергированием с

последующей очисткой микротвердофазной экстракцией (на колонке, заполненной 50 мг сорбента). Пробоподготовка на сорбенте MQS1 с молекулярными отпечатками кверцетина позволила определить содержание рутина в соцветиях липы, которое составило 1.37 мкг/г с  $s_r=0.02$ .

Дальнейшие исследования планируется направить на получение упорядоченных мезопористых кремнеземов из более доступных реагентов (в том числе с использованием отходов сельского хозяйства), а также расширение вариантов твердофазной экстракции для извлечения, очистки и концентрирования полифенольных соединений из многокомпонентных матриц.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

*A* – оптическая плотность;

*AscA* – аскорбиновая кислота

*BET* (БЭТ) – метод описания полимолекулярной (многослойной) адсорбции молекул по уравнениям Брунауэра (S. Brunauer), Эммета (P. H. Emmet) и Тейлора (E. Teller);

*VJH* – метод Барретта (E.P. Barrett,) – Джойнера (L.G. Joynner) – Халенда (P.P.J. Halenda) – метод расчета распределения пор по размерам (при математическом описании десорбции газа);

*BuOH* – бутанол-1;

*c<sub>0</sub>* – исходная концентрация компонента раствора, моль/дм<sup>3</sup>;

*c* – концентрация аналита в объеме раствора, моль/дм<sup>3</sup>;

*c/c<sub>0</sub>* – относительная концентрация;

*CE* – эффективность сорбционного концентрирования, мин<sup>-1</sup>;

*SpA* – коричная кислота

*SmA* – п-кумаровая кислота

*SfA* – кофейная кислота;

*d<sub>h</sub>* – гидродинамический диаметр, нм;

*d<sub>p</sub>* – диаметр пор сорбентов, нм;

*dhQuer* – дигидрокверцетин;

*EtOH* – этанол;

*Quer* – кверцетин;

*Nar* – нарингин;

*Rut* – рутин;

*MCM-41* – кремнезем с гексагональной упорядоченной структурой;

*MS-T* – аналог *MCM-41*, синтезированный из тетраэтоксисилана

*KIT-6* – кремнезем с кубической упорядоченной структурой;

*PDI* – индекс полидисперсности;

SBA-15 – кремнезем с гексагональной упорядоченной микро-мезопористой структурой;

MeCN – ацетонитрил;

MS1 – аналог SBA-15;

MS-T – аналог SBA-15, синтезированный из тетраэтоксисилана;

MDQS1 – аналог SBA-15, синтезированный в присутствии дигидрокверцетина;

MQS1 – аналог SBA-15, синтезированный в присутствии кварцетина;

MK1 – аналог KIT-6;

MS1-Met, MQS1-Met – метилированные аналоги SBA-15;

$K_{\text{конц}}$  – коэффициент концентрирования;

$K_{\text{отн}}$  – относительный коэффициент концентрирования;

$K_d$  – коэффициент распределения вещества, см<sup>3</sup>/г;

$K_d'$  – безразмерный коэффициент распределения;

$K_K$  – коэффициент концентрирования, рассчитанный по модели эффективности сорбционного концентрирования;

$k'$  – фактор удерживания;

$h$  – высота слоя сорбента, см;

$N$  – число теоретических тарелок, т.т./м;

$m$  – масса навески, г;

P123 – блоксополимер полиэтиленоксид-полипропиленоксид-полиэтиленоксида Pluronic P123;

QuEChERS – вариант твердофазной экстракции (от Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe – быстро, просто, дешево, эффективно, надежно и безопасно);

$v$  – скорость потока раствора через слой сорбента, см<sup>3</sup>/мин;

$R_s$  – разрешение хроматографических зон;

$s_r$  – относительное стандартное отклонение;

$S_{\text{уд}}$  – удельная площадь поверхности, м<sup>2</sup>/г;

$V$  – объем раствора, см<sup>3</sup>;

$V_0$  – объем сорбента, см<sup>3</sup>;

$V/V_0$  – относительный объем;

$V_R$  – объем удерживания аналита, см<sup>3</sup>;

$T$  – температура, °С.

$T$  – безразмерный параметр времени;

$t$  – время сорбции, с;

$X$  – безразмерный параметр длины слоя сорбента;

$\alpha$  – коэффициент селективности

$\delta$  – безразмерный диффузионный параметр;

$\varepsilon$  – молярный коэффициент поглощения, л·моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

$\varepsilon_p$  – пористость (порозность) сорбента;

$\eta$  – полнота использования сорбционной емкости при динамическом сорбционном концентрировании веществ;

$\eta(X, T)$  – функция полноты использования сорбционной емкости в безразмерных координатах  $X$ - $T$ ;

$\lambda_{\max}$  – длина волны при максимуме поглощения электромагнитного излучения, нм;

$\nu$  – волновое число, см<sup>-1</sup>;

$\sigma_v$  – стандартное отклонение объема проскока, см<sup>3</sup>;

$\chi$  – «потери» целевого компонента;

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;

ДРС – динамическое рассеяние света;

д-ТФЭ – дисперсионная твердофазная экстракция

ККМ – критическая концентрация мицеллообразования, моль/л;

ККТ – критическая температура мицеллообразования, °С;

МТФД – матричное твердофазное диспергирование;

ТФЭ – твердофазная экстракция;

ТМХС – триметилхлорсилан;

ТЭОС – тетраэтоксисилан;

ПАВ – поверхностно-активное вещество;

ПМО – полимеры с молекулярными отпечатками;

ЦТАБ – бромид цетилтриметиламмония.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. The role of polyphenols in abiotic stress response: The influence of molecular structure / D. Šamec, E. Karalija, I. Šola [et al.] // *Plants*. – 2021. – Vol. 10. – № 1. – P. 1-24.
2. Flavonoids: biological activities and therapeutic potential / M. M. Jucá, F. M. S. Cysne Filho, J. C. de Almeida [et al.] // *Natural Product Research*. – 2020. – Vol. 34. – № 5. – P. 692-705.
3. Dias M. C. Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity / M. C. Dias, D. C. G. A. Pinto, A. M. S. Silva // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26. – № 17. – P. 5377.
4. Huynh T. T. H. Relationship between Flavonoid Chemical Structures and Their Antioxidant Capacity in Preventing Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Formation in Heated Meat Model System / T. T. H. Huynh, W. Wongmaneepratip, K. Vangnai // *Foods*. – 2024. – Vol. 13. – № 7. – P. 1002.
5. Synthesis and application of mesoporous molecular sieve for miniaturized matrix solid-phase dispersion extraction of bioactive flavonoids from toothpaste, plant, and saliva / W. Cao, J. Cao, L. H. Ye [et al.] // *Electrophoresis*. – 2015. – Vol. 36. – № 23. – P. 2951-2960.
6. Quantitative analysis of flavanones from citrus fruits by using mesoporous molecular sieve-based miniaturized solid phase extraction coupled to ultrahigh-performance liquid chromatography and quadrupole time-of-flight mass spectrometry / W. Cao, L. H. Ye, J. Cao [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2015. – Vol. 1406. – P. 68-77.
7. Yedhu Krishnan R. Microwave assisted extraction of flavonoids from *Terminalia bellerica*: Study of kinetics and thermodynamics / R. Yedhu Krishnan, K. S. Rajan // *Separation and Purification Technology*. – 2016. – Vol. 157. – P. 169-178.
8. Study of polyethylene glycol as a green solvent in the microwave-assisted extraction of flavone and coumarin compounds from medicinal plants / T. Zhou, X. Xiao,

G. Li, Z. Cai // *Journal of Chromatography A*. – 2011. – Vol. 1218. – № 23. – P. 3608-3615.

9. Ávila S. G. de. Optimisation of SBA-15 properties using Soxhlet solvent extraction for template removal / S. G. de Ávila, L. C. C. Silva, J. R. Matos // *Microporous and Mesoporous Materials*. – 2016. – Vol. 234. – P. 277-286.

10. Chemical Fingerprint of Free Polyphenols and Antioxidant Activity in Dietary Fruits and Vegetables Using a Non-Targeted Approach Based on QuEChERS Ultrasound-Assisted Extraction Combined with UHPLC-PDA / J. Aguiar, J. L. Gonçalves, V. L. Alves, J. S. Câmara // *Antioxidants*. – 2020. – Vol. 9. – № 4. – P. 305.

11. Michalkiewicz A. Solid-phase extraction procedure for determination of phenolic acids and some flavonols in honey / A. Michalkiewicz, M. Biesaga, K. Pyrzyńska // *Journal of Chromatography A*. – 2008. – Vol. 1187. – № 1-2. – P. 18-24.

12. Molecular imprinted polymer for solid-phase extraction of flavonol aglycones from *Moringa oleifera* extracts / V. Pakade, E. Cukrowska, S. Lindahl [et al.] // *Journal of Separation Science*. – 2013. – Vol. 36. – № 3. – P. 548-555.

13. Adsorption and Recovery of Polyphenolic Flavonoids Using TiO<sub>2</sub>-Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles / M. A. Khan, W. T. Wallace, S. Z. Islam [et al.] // *ACS Applied Materials and Interfaces*. – 2017. – Vol. 9. – № 37. – P. 32114-32125.

14. Zengin A. Selective separation and determination of quercetin from red wine by molecularly imprinted nanoparticles coupled with HPLC and ultraviolet detection / A. Zengin, M. U. Badak, N. Aktas // *Journal of Separation Science*. – 2018. – Vol. 41. – № 17. – P. 3459-3466.

15. A review of the modern principles and applications of solid-phase extraction techniques in chromatographic analysis / M. E. I. Badawy, M. A. M. El-Nouby, P. K. Kimani [et al.] // *Analytical Sciences*. – 2022. – Vol. 38. – № 12. – P. 1457-1487.

16. Efficiency of Polyphenol Extraction from Artificial Honey Using C18 Cartridges and Amberlite® XAD-2 Resin: A Comparative Study / C. Yung An, Md. M. Hossain, F. Alam [et al.] // *Journal of Chemistry*. – 2016. – Vol. 2016. – P. 1-6.

17. Wang N. Synthesis of a polymeric imidazolium-embedded octadecyl ionic liquid-grafted silica sorbent for extraction of flavonoids / N. Wang, X. Zhou, B. Cui // *Journal of Chromatography A*. – 2019. – Vol. 1606. – P. 460376.

18. Сорбция кверцетина высокоосновными анионообменниками / Н. А. Удалова, С. И. Карпов, В. Ф. Селеменев, И. А. Шармар // *Журнал физической химии*. – Т. 83. – № 6. – С. 1143-1149.

19. Chen Y. Adsorption kinetics, isotherm and thermodynamics studies of flavones from *Vaccinium Bracteatum* Thunb. leaves on NKA-2 resin / Y. Chen, D. Zhang // *Chemical Engineering Journal*. – 2014. – Vol. 254. – P. 579-585.

20. Полимерные и кремнийсодержащие материалы в процессах разделения и концентрирования неполярных биологически активных веществ / А. С. Аскурава, Л. А. Синяева, С. И. Карпов, В. Ф. Селеменев, F. Roessner // VII Всероссийская конференция «Физико-химические процессы в конденсированных средах и на межфазных границах – ФАГРАН-2015». – Воронеж, 2015. – С. 428-429.

21. Концентрирование углеродными сорбентами фенольных соединений и их хроматографическое определение в водных экстрактах лекарственных растений / З. А. Темердашев, Е. А. Виноцкая, В. В. Милевская, М. А. Статкус // *Журнал аналитической химии*. – 2021. – Т. 76. – № 3. – С. 208-217.

22. Твердофазное концентрирование фенольных соединений из водных экстрактов лекарственных растений семейств Зверобойные и Яснотковые на сорбентах различной природы / З. А. Темердашев, Е. А. Виноцкая, В. В. Милевская, Н. В. Киселева // *Аналитика и контроль*. – 2020. – Т. 24. – № 2. – С. 86-95.

23. Preparation of Mannich reaction modified magnetic adsorbent for separation and purification of total flavonoids from *Lycium barbarum* leaves / Q. Lou, D. Pei, Q. Hao [et al.] // *Reactive and Functional Polymers*. – 2024. – Vol. 194. – P. 105797.

24. Efficient adsorption of flavonoids on amino-functionalized ZIF-8/chitosan aerogels / F. Zhang, N. Ma, L. He [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2024. – Vol. 282. – P. 136928.

25. A stable core-shell metal-organic framework@covalent organic framework composite as solid-phase extraction adsorbent for selective enrichment and determination

of flavonoids / M. Ma, X. Lu, L. Wang [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2023. – Vol. 1707. – P. 464324.

26. Quercetin Recovery from Onion Solid Waste via Solid-Phase Extraction Using Molecularly Imprinted Polymer Nanoparticles / S. S. M. Hassan, H. I. Abdel Shafy, M. S. M. Mansour, H. E. Sayour // *International Journal of Food Engineering*. – 2019. – Vol. 15. – № 1-2. – P. 20170024.

27. Quercetin molecularly imprinted polymers: Preparation, recognition characteristics and properties as sorbent for solid-phase extraction / X. Song, J. Li, J. Wang, L. Chen // *Talanta*. – 2009. – Vol. 80. – № 2. – P. 694-702.

28. A novel magnetic molecularly imprinted polymer for selective extraction and determination of quercetin in plant samples / A. Karrat, J. M. Palacios-Santander, A. Amine, L. Cubillana-Aguilera // *Analytica Chimica Acta*. – 2022. – Vol. 1203. – P. 339709.

29. Ordered macroporous molecularly imprinted polymers prepared by a surface imprinting method and their applications to the direct extraction of flavonoids from Ginkgo leaves / C. Liang, Z. Zhang, H. Zhang [et al.] // *Food Chemistry*. – 2020. – Vol. 309. – P. 125680.

30. Yang Y. Preparation and Application of Molecularly Imprinted Polymers for Flavonoids: Review and Perspective / Y. Yang, X. Shen // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27. – № 21. – P. 7355.

31. Determination of Some Flavonoids by HPLC Using Quercetin-Molecularly Imprinted Polymers / J. Krňanová, N. Denderz, J. Lehotay, M. Samohýl // *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. – 2015. – Vol. 38. – № 6. – P. 702-708.

32. Magnetic molecularly imprinted polymers doped with graphene oxide for the selective recognition and extraction of four flavonoids from Rhododendron species / X. Ma, H. Lin, Y. He [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2019. – Vol. 1598. – P. 39-48.

33. Петрова Ю.Ю. Сорбционное концентрирование кверцетина с использованием молекулярно импринтированных флороглюцино-меламино-

формальдегидных смол / Ю. Ю. Петрова, Е. В. Булатова, Е. В. Кухтенко // Журнал аналитической химии. – 2023. – Т. 78. – № 12. – С. 1096-1105.

34. Modern trends in solid phase extraction: New sorbent media / J. Płotka-Wasyłka, N. Szczepańska, M. De La Guardia, J. Namieśnik // Trends in Analytical Chemistry. – 2016. – Vol. 77. – P. 23-43.

35. Trends in sorbent development for dispersive micro-solid phase extraction / M. Ghorbani, M. Aghamohammadhassan, H. Ghorbani, A. Zabihi // Microchemical Journal. – 2020. – Vol. 158. – P. 105250.

36. Recent advances of ordered mesoporous silica materials for solid-phase extraction / D. Wang, X. Chen, J. Feng, M. Sun // Journal of Chromatography A. – 2022. – Vol. 1675. – P. 463157.

37. Review of nanomaterials as sorbents in solid-phase extraction for environmental samples / A. Azzouz, S. K. Kailasa, S. S. Lee [et al.] // Trends in Analytical Chemistry. – 2018. – Vol. 108. – P. 347-369.

38. 4-phenyl-1,2,3-triazole functionalized mesoporous silica SBA-15 as sorbent in an efficient stir bar-supported micro-solid-phase extraction strategy for highly to moderately polar phenols / A. Tanimu, S. M. S. Jillani, A. A. Alluhaidan [et al.] // Talanta. – 2019. – Vol. 194. – P. 377-384.

39. Fluorescent silica MCM-41 nanoparticles based on flavonoids: Direct post-doping encapsulation and spectral characterization / A. Landström, S. Leccese, H. Abadian [et al.] // Dyes and Pigments. – 2021. – Vol. 185. – P. 108870.

40. Stabilization of quercetin flavonoid in MCM-41 mesoporous silica: positive effect of surface functionalization. / G. Berlier, L. Gastaldi, E. Ugazio [et al.] // Journal of Colloid and Interface Science. – 2013. – Vol. 393. – № 1. – P. 109-118.

41. Карпов С. И. Разделение (+)-катехина и кверцетина на мезопористых композитах МСМ-41. Динамика сорбции флавоноидов / С. И. Карпов, Е. О. Корабельникова // Журнал физической химии. – 2015. – Т. 89. – № 6. – С. 1030-1037.

42. Antioxidant activity and modified release profiles of morin and hesperetin flavonoids loaded in Mg- or Ag-modified SBA-16 carriers / I. Trendafilova, J. Mihály,

D. Momekova [et al.] // *Materials Today Communications*. – 2020. – Vol. 24. – P. 101198.

43. Завалюева А. С. Сорбционное концентрирование флавоноидов упорядоченными мезопористыми кремнеземами, синтезированными в присутствии потенциального сорбата / А. С. Завалюева, С. И. Карпов, В. Ф. Селеменев // *Журнал аналитической химии*. – 2024. – Т. 79. – № 12. – С. 1291-1299.

44. Determination of cis-diol-containing flavonoids in real samples using boronate affinity quantum dots coated with imprinted silica based on controllable oriented surface imprinting approach / D. Li, S. Zhai, R. Song [et al.] // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2020. – Vol. 227. – P. 117542.

45. Braga L. R. Synthesis and characterization of molecularly imprinted silica mediated by Al for solid phase extraction of quercetin in *Ginkgo biloba* L. / L. R. Braga, A. A. Rosa, A. C. B. Dias // *Anal. Methods*. – 2014. – Vol. 6. – № 12. – P. 4029-4037.

46. Recent trends in sampling and sorbent-based sample preparation procedures for bioanalytical applications / M. Locatelli, A. Kabir, M. Perrucci [et al.] // *Microchemical Journal*. – 2024. – Vol. 207. – P. 111903.

47. Barker S. A. Matrix solid phase dispersion (MSPD) / S. A. Barker // *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. – 2007. – Vol. 70. – № 2. – P. 151-162.

48. Rapid and Sensitive Method for Extraction of *Plicosepalus acacia* with Determination of Its Main Polyphenolic Compounds Using Validated HPLC / M. N. Alzain, R. N. Herqash, A. N. Almoqbil [et al.] // *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. – 2020. – P. 9598606.

49. Solid-phase extraction versus matrix solid-phase dispersion: Application to white grapes / M. S. Dopico-García, P. Valentão, A. Jagodzińska [et al.] // *Talanta*. – 2007. – Vol. 74. – № 1. – P. 20-31.

50. Matrix solid phase dispersion extraction for determination of flavonoids in the flower of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. by capillary zone electrophoresis / H. Zhang, M. Kang, H. Zhang, Y. Yu // *Anal. Methods*. – 2014. – Vol. 6. – № 3. – P. 766-773.

51. Dawidowicz A. L. Application of the MSPD Technique for the HPLC Analysis of Rutin in *Sambucus nigra* L.: The Linear Correlation of the Matrix Solid-Phase Dispersion Process / A. L. Dawidowicz, D. Wianowska // Journal of Chromatographic Science. – 2009. – Vol. 47. – P. 914-918.

52. Trace matrix solid phase dispersion using a molecular sieve as the sorbent for the determination of flavonoids in fruit peels by ultra-performance liquid chromatography / W. Cao, S. S. Hu, L. H. Ye [et al.] // Food Chemistry. – 2016. – Vol. 190. – P. 474-480.

53. Allothman Z. A. A Review: Fundamental Aspects of Silicate Mesoporous Materials / Z. A. Allothman. // Materials. – 2012. – Vol. 5. – № 12. – P. 2874-2902.

54. A new family of mesoporous molecular sieves prepared with liquid crystal templates / J. S. Beck, J. C. Vartuli, W. J. Roth [et al.] // Nuclear Safety. – 1992. – Vol. 114. – P. 10834-10843.

55. A rapid and efficient extraction method based on industrial MCM-41-miniaturized matrix solid-phase dispersion extraction with response surface methodology for simultaneous quantification of six flavonoids in Pollen typhae by ultra-high-performance liquid chromatography. / X. Wang, J. Li, X. Yang [et al.] // Separation science. – 2019. – Vol. 42. – № 14. – P. 2426-2434.

56. Polyphenols extract from grape pomace. Characterization and valorisation through encapsulation into mesoporous silica-type matrices / A. M. Brezoiu, C. Matei, M. Deaconu [et al.] // Food and Chemical Toxicology. – 2019. – Vol. 133. – P. 110787.

57. Properties of *Salvia officinalis* L. and *Thymus serpyllum* L. extracts free and embedded into mesopores of silica and titania nanomaterials / A. M. Brezoiu, M. Prundeanu, D. Berger [et al.] // Nanomaterials. – 2020. – Vol. 10. – № 5. – P. 820.

58. Dispersive Solid-Phase Extraction of Polyphenols from Juice and Smoothie Samples Using Hybrid Mesostructured Silica Followed by Ultra-high-Performance Liquid Chromatography-Ion-Trap Tandem Mass Spectrometry / N. Casado, S. Morante-Zarero, D. Pérez-Quintanilla [et al.] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2019. – Vol. 67. – № 3. – P. 955-967.

59. Chisvert A. Dispersive micro-solid phase extraction / A. Chisvert, S. Cárdenas, R. Lucena // Trends in Analytical Chemistry. – 2019. – Vol. 112. – P. 226-233.

60. Elattar R. H. Porous material-based QuEChERS: Exploring new horizons in sample preparation / R. H. Elattar, A. Kamal El-Deen // Trends in Analytical Chemistry. – 2024. – Vol. 172. – P. 117571.

61. Trace-chitosan-wrapped multi-walled carbon nanotubes as a new sorbent in dispersive micro solid-phase extraction to determine phenolic compounds / W. Cao, S. S. Hu, L. H. Ye [et al.] // Journal of Chromatography A. – 2015. – Vol. 1390. – P. 13-21.

62. QuEChERS sample preparation for the determination of pesticides and other organic residues in environmental matrices: a critical review / M. C. Bruzzoniti, L. Checchini, R. M. De Carlo [et al.] // Analytical and Bioanalytical Chemistry. – 2014. – Vol. 406. – № 17. – P. 4089-4116.

63. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and «Dispersive Solid-Phase Extraction» for the Determination of Pesticide Residues in Produce / M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbaher, F. J. Schenck // Journal of AOAC International. – 2003. – Vol. 86. – № 2. – P. 412–431.

64. Determination of Phenolic Compounds in Red Sweet Pepper (*Capsicum annuum* L.) Using a Modified Modified QuEChERS Method and UHPLC-MS/MS Analysis and Its Relation to Antioxidant Activity / C. A. Rodrigues, A. E. Nicácio, I. C. S. F. Jardim [et al.] // Journal of the Brazilian Chemical Society. – 2019. – Vol. 30. – № 6. – P. 1229-1240.

65. Особенности спектрофотометрического определения мономерных антоцианов / Л. А. Дейнека, А. Н. Сидоров, В. И. Дейнека [и др.] // Журнал аналитической химии. – 2020. – Т. 75. – № 6. – С. 510-515.

66. Вольтамперометрическое определение кверцетина и рутина при совместном присутствии на электроде, модифицированном политимолфталейном / Е. В. Гусс, Г. К. Зиятдинова, А. С. Жупанова, Г. К. Будников // Журнал аналитической химии. – 2020. – Т. 75. – № 4. – С. 348-359.

67. Хроматографическая оценка содержания фенольных соединений в экстрактах ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.) в различных условиях

извлечения / З. А. Темердашев, Т. К. Чубукина, Е. А. Виницкая, Н. В. Киселева // Журнал аналитической химии. – 2023. – Т. 78. – № 4. – С. 365-375.

68. Kumar S. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview / S. Kumar, A. K. Pandey // The Scientific World Journal. – 2013. – P. 162750.

69. Matic P. Validation of Spectrophotometric Methods for the Determination of Total Polyphenol and Total Flavonoid Content / P. Matic, M. Sabljic, L. Jakobek // Journal of AOAC International. – 2017. – Vol. 100. – № 6. – P. 1795-1803.

70. Определение флавоноидов кожуры плодов *Citrus reticulata* / В. Ф. Селеменев, В. И. Дейнека, Я. Ю. Саласина [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2024. – Т. 24. – № 1. – С. 34-43.

71. Monago-Maraña, O. Isocratic LC-DAD-FLD method for the determination of flavonoids in paprika samples by using a rapid resolution column and post-column pH change / O. Monago-Maraña, A. Muñoz De La Peña, T. Galeano-Díaz // Talanta. – 2016. – Vol. 152. – P. 15-22.

72. Сорбция флавоноидов из водно-ацетонитрильных растворов, содержащих имидазолиевые ионные жидкости, на октадецилсиликагеле в условиях ОФ ВЭЖХ / В. М. Разницына, Р. В. Шафигулин, К. Ю. Виноградов, А. В. Буланова // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2024. – Т. 24. – № 6. – С. 975-993.

73. New insights into the structure-performance relationships of mesoporous materials in analytical science / J. Wang, Q. Ma, Y. Wang [et al.] // Chemical Society Reviews. – 2018. – Vol. 47. – № 23. – P. 8766-8803.

74. Effective solid-phase extraction of chlorophenols with covalent organic framework material as adsorbent / J. Liu, J. Wang, Y. Guo [et al.] // Journal of Chromatography A. – 2022. – Vol. 1673. – P. 463077.

75. Meynen V. Verified syntheses of mesoporous materials / V. Meynen, P. Cool, E. F. Vansant // Microporous and Mesoporous Materials. – 2009. – Vol. 125. – № 3. – P. 170-223.

76. Mesoporous/microporous silica materials: Preparation from natural sands and highly efficient fixed-bed adsorption of methylene blue in wastewater / L. Sheng,

Y. Zhang, F. Tang, S. Liu // *Microporous and Mesoporous Materials*. – 2018. – Vol. 257. – P. 9-18.

77. Synthesis of ordered mesoporous silica with various pore structures using high-purity silica extracted from rice husk / J. Chun, Y. Mo Gu, J. Hwang [et al.] // *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. – 2020. – Vol. 81. – P. 135-143.

78. Medeiros de Paula G. Production of MCM-41 and SBA-15 Hybrid Silicas from Industrial Waste / G. Medeiros de Paula, L. do Nascimento Rocha de Paula, M. G. Freire Rodrigues // *Silicon*. – 2022. – Vol. 14. – № 2. – P. 439-447.

79. Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism / C. T. Kresge, M. E. Leonowicz, W. J. Roth [et al.] // *Nature*. – 1992. – Vol. 359. – P. 710-712.

80. Triblock copolymer syntheses of mesoporous silica with periodic 50 to 300 angstrom pores / D. Zhao, J. Feng, Q. Huo [et al.] // *Science*. – 1998. – Vol. 279. – № 5350. – P. 548-552.

81. Zhang H. Synthesis of ordered cubic smaller supermicroporous mesoporous silica using ionic liquid as template / H. Zhang, S. Liu // *Materials Letters*. – 2018. – Vol. 221. – P. 119-122.

82. Elimbinzi E. Mixed bio-based surfactant-templated mesoporous silica for supporting palladium catalyst / E. Elimbinzi, J. E. Mgaya // *Heliyon*. – 2024. – Vol. 10. – № 20. – P. e39168.

83. Phospholipid-templated silica nanocapsules as efficient polyenzymatic biocatalysts / L. T. Phuoc, P. Laveille, F. Chamouleau [et al.] // *Dalton Transactions*. – 2010. – Vol. 39. – № 36. – P. 8511-8520.

84. Sanaeishoar H. Synthesis and characterization of micro-mesoporous MCM-41 using various ionic liquids as co-templates / H. Sanaeishoar, M. Sabbaghan, F. Mohave // *Microporous and Mesoporous Materials*. – 2015. – Vol. 217. – P. 219-224.

85. Bagshaw S. A. Templating of mesoporous molecular sieves by nonionic polyethylene oxide surfactants / S. A. Bagshaw, E. Prouzet, T. J. Pinnavaia // *Science*. – 1995. – Vol. 269. – № 5228. – P. 1242-1244.

86. Tanev P. T. Biomimetic Templating of Porous Lamellar Silicas by Vesicular Surfactant Assemblies / P. T. Tanev, T. J. Pinnavaia // *Science*. – 1996. – Vol. 271. – P. 1267-1269.

87. Nonionic Triblock and Star Diblock Copolymer and Oligomeric Surfactant Syntheses of Highly Ordered, Hydrothermally Stable, Mesoporous Silica Structures / D. Zhao, Q. Huo, J. Feng [et al.] // *Journal of the American Chemical Society* – 1998. – Vol. 120. – P. 6024-6036

88. MCM-48-like large mesoporous silicas with tailored pore structure: Facile synthesis domain in a ternary triblock copolymer-butanol-water system / T. W. Kim, F. Kleitz, B. Paul, R. Ryoo // *Journal of the American Chemical Society*. – 2005. – Vol. 127. – № 20. – P. 7601-7610.

89. Enhanced selective extraction of biogenic amines using carboxyl-functionalized SBA-15 and SBA-16 mesoporous silica / W. Yu, H. Lan, Z. Wu [et al.] // *Microporous and Mesoporous Materials*. – 2025. – Vol. 382. – P. 113404.

90. Solid-phase extraction of phospholipids using mesoporous silica nanoparticles: application to human milk samples / H. Martínez Pérez-Cejuela, I. Ten-Doménech, J. El Haskouri [et al.] // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2018. – Vol. 410. – № 20. – P. 4847-4854.

91. Selective extraction of aliphatic amines by functionalized mesoporous silica-coated solid phase microextraction Arrow / H. Lan, W. Zhang, J. H. Smått [et al.] // *Microchimica Acta*. – 2019. – Vol. 186. – № 7. – P. 412.

92. Adsorption performance of VOCs in ordered mesoporous silicas with different pore structures and surface chemistry / B. Dou, Q. Hu, J. Li [et al.] // *Journal of Hazardous Materials*. – 2011. – Vol. 186. – № 2-3. – P. 1615-1624.

93. Adsorption of biomolecules on mesostructured cellular foam silica: Effect of acid concentration and aging time in synthesis / J. Kim, R. J. Desch, S. W. Thiel [et al.] // *Microporous and Mesoporous Materials*. – 2012. – Vol. 149. – № 1. – P. 60-68.

94. Synthesis of MCM-41 with Different Pore Diameters without Addition of Auxiliary Organics / A. Corma, Q. Kan, M. T. Navarro [et al.] // *Chemistry of materials*. – 1997. – Vol. 9. – P. 2123-2126.

95. Mesocellular siliceous foams with uniformly sized cells and windows / P. Schmidt-Winkel, W. W. Lukens, D. Zhao [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. – 1999. – Vol. 121. – № 1. – P. 254-255.

96. Wanka G. Phase Diagrams and Aggregation Behavior of Poly(oxyethylene)-Poly(oxypropylene)-Poly(oxyethylene) Triblock Copolymers in Aqueous Solutions / G. Wanka, H. Hoffmann, W. Ulbricht // *Macromolecules*. – 1994. – Vol. 27. – № 15. – P. 4145-4159.

97. Effect of pharmaceutical excipients on micellization of Pluronic and the application as drug carrier to reverse MDR / Y. Li, Y. Tian, X. Jia [et al.] // *Journal of Molecular Liquids*. – 2023. – Vol. 383. – P. 122182.

98. Patidar P. Modulating effect of different biomolecules and other additives on cloud / P. Patidar, A. Bahadur // *Journal of Molecular Liquids*. – 2018. – Vol. 249. – P. 219-226.

99. Butanol solubilization in aqueous F127 solution: Investigating the enhanced micellar solvation and consequent improvement in gelation characteristics / P. Parekh, J. Dey, S. Kumar [et al.] // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2014. – Vol. 114. – P. 386-391.

100. Additive induced core and corona specific dehydration and ensuing growth and interaction of Pluronic F127 micelles / J. Dey, S. Kumar, S. Nath [et al.] // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2014. – Vol. 415. – P. 95-102.

101. Sol-gel synthesis of SBA-15: Impact of HCl on surface chemistry / C. Pirez, J. C. Morin, J. C. Manayil [et al.] // *Microporous and Mesoporous Materials*. – 2018. – Vol. 271. – P. 196-202.

102. Barczak M. Template removal from mesoporous silicas using different methods as a tool for adjusting their properties / M. Barczak // *New Journal of Chemistry*. – 2018. – Vol. 42. – № 6. – P. 4182-4191.

103. Optimization of surface silanol groups in mesoporous SBA-15 and KIT-6 materials: Effects on APTES functionalization and CO<sub>2</sub> adsorption / A. N. Arias, A. L. Páez Jerez, Á. Y. Tesio [et al.] // *Microporous and Mesoporous Materials*. – 2025. – Vol. 382. – P. 113394.

104. Qin Q. Enhanced nitrobenzene adsorption in aqueous solution by surface silylated MCM-41 / Q. Qin, Y. Xu // *Microporous and Mesoporous Materials*. – 2016. – Vol. 232. – P. 143-150.

105. Burkett S. L. Synthesis of hybrid inorganic-organic mesoporous silica by co-condensation of siloxane and organosiloxane precursors / S. L. Burkett, S. D. Sims, S. Mann // *Chemical Communications*. – 1996. – № 11. – P. 1367-1368.

106. Quaternary ammonium-functionalized MCM-48 mesoporous silica as a sorbent for the dispersive solid-phase extraction of endocrine disrupting compounds in water / S. Zhang, F. Lu, X. Ma [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2018. – Vol. 1557. – P. 1-8.

107. Amino-grafted mesoporous MCM-41 and SBA-15 recyclable adsorbents: Desert-rose-petals-like SBA-15 type as the most efficient to remove azo textile dyes and their mixture from water / V. Rizzi, J. Gubitosa, P. Fini [et al.] // *Sustainable Materials and Technologies*. – 2020. – Vol. 26. – P. e00231.

108. Colorless BHET obtained from PET by modified mesoporous catalyst ZnO/SBA-15 / H. Yao, L. Liu, D. Yan [et al.] // *Chemical Engineering Science*. – 2022. – Vol. 248. – P. 117109.

109. Heteroatom modified MCM-41-silica carriers for Lomefloxacin delivery systems / A. M. Brezoiu, M. Deaconu, I. Nicu [et al.] // *Microporous and Mesoporous Materials*. – 2019. – Vol. 275. – P. 214-222.

110. A generalized method toward high dispersion of transition metals in large pore mesoporous metal oxide/silica hybrids / F. Bérubé, A. Khadraoui, J. Florek [et al.] // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2014. – Vol. 449. – P. 102-114.

111. Ag modification of SBA-15 and MCM-41 mesoporous materials as sorbents of thiophene / Y. Liu, J. Liao, L. Chang, W. Bao // *Fuel*. – 2022. – Vol. 311. – P. 122537.

112. Способ получения мезопористого сорбента : пат. 2491989 Рос. Федерация / Н.А. Беланова, С.И. Карпов, В.Ф. Селеменев, Ф. Ресснер; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Воронежский

государственный университет" (ФГБОУ ВПО "ВГУ"). – № 2012112004/04, заяв. 29.03.2012; опублик. 29.03.2012, Бюл. № 17. – 8 с.

113. Влияние флавоноидов на пористость и структуру мезопористых материалов типа SBA-15 при их синтезе / Н. А. Беланова, С. И. Карпов, Л. А. Синяева [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2018. – Т. 18. – № 2. – С. 160-169.

114. Modification of mesoporous silica with molecular imprinting technology: A facile strategy for achieving rapid and specific adsorption / Z. Xu, P. Deng, J. Li [et al.] // Materials Science and Engineering C. – 2019. – Vol. 94. – P. 684-693.

115. Susanti I. Synthesis of Mesoporous Silica Imprinted Salbutamol with Two TEOS/MTES Ratio Compositions through the Direct Incorporation Method for Salbutamol Separation / I. Susanti, M. Mutakin, A. N. Hasanah // Scientific World Journal. – 2023. – P. 2871761.

116. Selective extraction and enrichment of aflatoxins from food samples by mesoporous silica FDU-12 supported aflatoxins imprinted polymers based on surface molecularly imprinting technique / C. Rui, J. He, Y. Li [et al.] // Talanta. – 2019. – Vol. 201. – P. 342-349.

117. Post-imprinting modification based on multilevel mesoporous silica for highly sensitive molecularly imprinted fluorescent sensors / H. Lu, D. Wei, R. Zheng, S. Xu // Analyst. – 2019. – Vol. 144. – № 21. – P. 6283-6290.

118. Roik N. V. Solubilization of azo dyes by cetyltrimethylammonium bromide micelles as structure control factor at synthesis of ordered mesoporous silicas / N. V. Roik, L. A. Belyakova, M. O. Dziazko // Journal of Molecular Liquids. – 2021. – Vol. 328. – P. 115451.

119. Influence of azo dye additives on structural ordering of mesoporous silicas / N. V. Roik, L. A. Belyakova, M. O. Dziazko, O. I. Oranska // Applied Nanoscience. – 2020. – Vol. 10. – № 8. – P. 2547-2556.

120. Solubilization of quercetin in P123 micelles: Scattering and NMR studies / S. Tiwari, J. Ma, S. Rathod, P. Bahadur // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. – 2021. – Vol. 621. – P. 126555.

121. Упорядоченные мезопористые кремнеземы в современных вариантах твердофазной экстракции / А. С. Завалюева, С. И. Карпов, Н. А. Затонская, В. Ф. Селеменев // Журнал аналитической химии. – 2025. – Т. 80. – № 1. – С. 3-21.

122. Comparison of different mesoporous silicas for off-line solid phase extraction of 17 $\beta$ -estradiol from waters and its determination by HPLC-DAD / J. Gañán, D. Pérez-Quintanilla, S. Morante-Zarcelero, I. Sierra // Journal of Hazardous Materials. – 2013. – Vol. 260. – P. 609-617.

123. High-efficiency purification of sulforaphane from the broccoli extract by nanostructured SBA-15 silica using solid-phase extraction method / S. M. Hafezian, S. N. Azizi, P. Biparva, A. Bekhradnia // Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences. – 2019. – Vol. 1108. – P. 1-10.

124. Miniaturized solid-phase extraction using a mesoporous molecular sieve SBA-15 as sorbent for the determination of triterpenoid saponins from *Pulsatilla chinensis* by ultrahigh-performance liquid chromatography-charged aerosol detection / H. Jiang, W. Zhang, J. Yang [et al.] // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2021. – Vol. 194. – P. 113810.

125. Сорбционное концентрирование фосфатидилхолина наноструктурированными мезопористыми материалами в динамических условиях / Л. А. Синяева, Н. А. Беланова, С. И. Карпов [и др.] // Журнал аналитической химии. – 2018. – Т. 73. – № 9. – С. 663-670.

126. The fabrication of a highly ordered molecularly imprinted mesoporous silica for solid-phase extraction of nonylphenol in textile samples / S. Cen, Y. Chen, J. Tan [et al.] // Microchemical Journal. – 2021. – Vol. 164. – P. 105954.

127. Synthesis of mimic molecularly imprinted ordered mesoporous silica adsorbent by thermally reversible semicovalent approach for pipette-tip solid-phase extraction-liquid chromatography fluorescence determination of estradiol in milk / L. Wang, H. Yan, C. Yang [et al.] // Journal of Chromatography A. – 2016. – Vol. 1456. – P. 58-67.

128. Ultrasound-enhanced matrix solid-phase dispersion micro-extraction applying Mesoporous Molecular Sieve SBA-15 for the determination of multiple compounds in

Fructus Psoraleae / K. Du, J. Li, X. Gao, Y. Chang // Sustainable Chemistry and Pharmacy. – 2020. – Vol. 15. – P. 100198.

129. An amino-functionalized mesoporous silica (KIT-6) as a sorbent for dispersive and ultrasonication-assisted micro solid phase extraction of hippuric acid and methylhippuric acid, two biomarkers for toluene and xylene exposure / M. Behbahani, S. Bagheri, F. Omid, M. M. Amini // Microchimica Acta. – 2018. – Vol. 185. – № 11. – P. 113-126.

130. Razmi H. Introduction of coiled solid phase microextraction fiber coated by mesoporous silica/cetyltrimethylammonium bromide for ultra-trace environmental analysis / H. Razmi, E. M. Khosrowshahi, S. Farrokhzadeh // Journal of Chromatography A. – 2017. – Vol. 1506. – P. 1-8.

131. Molecularly imprinted polymer sheathed mesoporous silica tube as SPME fiber coating for determination of tobacco-specific nitrosamines in water / Y. Chen, Y. Yu, S. Wang [et al.] // Science of the Total Environment. – 2024. – Vol. 906. – P. 167655.

132. Application of sol-gel based octyl-functionalized mesoporous materials coated fiber for solid-phase microextraction / X. Wang, H. Rao, X. Lu, X. Du // Talanta. – 2013. – Vol. 105. – P. 204-210.

133. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by solid-phase microextraction coupled to HPLC using a fiber with mesoporous silica coating / Y. Liu, F. Yang, L. Yang [et al.] // Journal of Analytical Chemistry. – 2014. – Vol. 69. – № 7. – P. 686-690.

134. An approach to application of mesoporous hybrid as a fiber coating of solid-phase microextraction / X. Z. Du, Y. R. Wang, X. J. Tao, H. L. Deng // Analytica Chimica Acta. – 2005. – Vol. 543. – № 1-2. – P. 9-16.

135. Comparison of multiple calibration approaches for the determination of volatile organic compounds in air samples by solid phase microextraction Arrow and in-tube extraction / J. Ruiz-Jimenez, H. Lan, Y. Leleev [et al.] // Journal of Chromatography A. – 2020. – Vol. 1616. – P. 460825.

136. Dendritic mesoporous silica nanospheres@porous carbon for in-tube solid-phase microextraction to detect polycyclic aromatic hydrocarbons in tea beverages /

J. Feng, J. Feng, H. M. Loussala [et al.] // *Food Chemistry*. – 2021. – Vol. 364. – P. 130379.

137. Mesoporous silica hybridized by ordered mesoporous carbon for in-tube solid-phase microextraction / H. M. Loussala, S. Han, J. Feng [et al.] // *Journal of Separation Science*. – 2020. – Vol. 43. – № 18. – P. 3655-3664.

138. Alhooshani K. Determination of nitrosamines in skin care cosmetics using Ce-SBA-15 based stir bar-supported micro-solid-phase extraction coupled with gas chromatography mass spectrometry / K. Alhooshani // *Arabian Journal of Chemistry*. – 2020. – Vol. 13. – № 1. – P. 2508-2516.

139. Tanimu A. N-sulfonyl-4-hydroxymethyl-1,2,3-triazole functionalized SBA-15: A porous organic-inorganic material for trace-level phenolic compounds extraction from water samples by stir bar-supported micro-solid-phase extraction / A. Tanimu, K. Alhooshani // *Microchemical Journal*. – 2020. – Vol. 159. – P. 105410.

140. C. L. Arthur. Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers / C. L. Arthur, J. Pawliszyn. // *Analytical chemistry*. – 1990. – Vol. 62. – P. 2145-2148.

141. Solid Phase Microextraction: Apparatus, Sorbent Materials, and Application / M. Sajid, M. Khaled Nazal, M. Rutkowska [et al.] // *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. – 2019. – Vol. 49. – № 3. – P. 271-288.

142. Selective and efficient sampling of nitrogen-containing compounds from air by in-tube extraction devices packed with zinc oxide-modified mesoporous silica microspheres / E. D. Pusfitasari, C. Youngren, J. Ruiz-Jimenez [et al.] // *Journal of Chromatography Open*. – 2023. – Vol. 3. – P. 100081.

143. Graphene oxide-functionalized mesoporous silica for online in-tube solid-phase microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from honey and detection by high performance liquid chromatography-diode array detector / M. Sun, S. Han, H. Maloko Loussala [et al.] // *Microchemical Journal*. – 2021. – Vol. 166. – P. 106263.

144. Application of hybrid mesoporous silica for extraction of hormones in milk by matrix solid phase dispersion / J. Gañan, M. Silva, S. Morante-Zarcero [et al.] // *Materials Letters*. – 2014. – Vol. 119. – P. 56-59.

145. Evaluation of MCM-41 and MCM-48 mesoporous materials as sorbents in matrix solid phase dispersion method for the determination of pesticides in soursop fruit (*Annona muricata*) / L. F. S. Santos, R. A. de Jesus, J. A. S. Costa [et al.] // Inorganic Chemistry Communications. – 2019. – Vol. 101. – P. 45-51.

146. Efficient analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons by dispersive- $\mu$ -solid-phase extraction using silica-based nanostructured sorbent phases coupled to gas chromatography-mass spectrometry / C. Scheid, W. Mello, S. Buchner [et al.] // Advances in Sample Preparation. – 2023. – Vol. 7. – P. 100070.

147. Application of a hybrid large pore mesoporous silica functionalized with  $\beta$ -cyclodextrin as sorbent in dispersive solid-phase extraction. Toward sustainable sample preparation protocols to determine polyphenolic compounds in *Arbutus unedo* L. fruits by UHPLC-IT-MS/MS / S. Izcara, S. Morante-Zarcero, D. Pérez-Quintanilla, I. Sierra // Journal of Food Composition and Analysis. – 2023. – Vol. 118. – P. 105191.

148. A rapid MCM-41 dispersive micro-solid phase extraction coupled with LC/MS/MS for quantification of ketoconazole and voriconazole in biological fluids / N. Yahaya, M. M. Sanagi, N. Abd Aziz [et al.] // Biomedical Chromatography. – 2017. – Vol. 31. – № 2. – P. 1-8.

149. Mesostructured Silicas as Cation-Exchange Sorbents in Packed or Dispersive Solid Phase Extraction for the Determination of Tropane Alkaloids in Culinary Aromatics Herbs by HPLC-MS/MS / L. González-Gómez, J. Gañán, S. Morante-Zarcero [et al.] // Toxins. – 2022. – Vol. 14. – № 3. – P. 218.

150. Ionic liquid-organic-functionalized ordered mesoporous silica-integrated dispersive solid-phase extraction for determination of plant growth regulators in fresh *Panax ginseng* / R. Si, Y. Han, D. Wu [et al.] // Talanta. – 2020. – Vol. 207.

151. Residue Levels and Dietary Intake Risk Assessments of 139 Pesticides in Agricultural Produce Using the m-PFC Method Based on SBA-15-C18 with GC-MS/MS / Y. Wang, T. Huang, T. Zhang [et al.] // Molecules. – 2023. – Vol. 28. – № 6. – P. 2480-2480.

152. Amino groups modified SBA-15 for dispersive-solid phase extraction in the analysis of micropollutants by QuEChERS approach / M. Castiglioni, B. Onida, L. Rivoira [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2021. – Vol. 1645. – P. 462107.

153. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report) / M. Thommes, K. Kaneko, A. V. Neimark [et al.] // *Pure and Applied Chemistry*. – 2015. – Vol. 87. – № 9-10. – P. 1051-1069.

154. Гельферих Ф. Иониты. Основы ионного обмена / Ф. Гельферих. – Москва : Иностранная литература, 1962. – 492 с.

155. Oniszczyk A. Influence of different extraction methods on the quantification of selected flavonoids and phenolic acids from *Tilia cordata* inflorescence / A. Oniszczyk, R. Podgórski // *Industrial Crops and Products*. – 2015. – Vol. 76. – P. 509-514.

156. Currie L. A. Nomenclature for the presentation of results of chemical analysis (IUPAC Recommendations 1994) / L. A. Currie, G. Svehla // *Pure and Applied Chemistry*. – 1994. – Vol. 66. – № 3. – P. 595-608.

157. Dahanayake R. Molecular Structure and Co-solvent Distribution in PPO-PEO and Pluronic Micelles / R. Dahanayake, E. E. Dormidontova // *Macromolecules*. – 2022. – Vol. 55. – № 23. – P. 10439-10449.

158. Interaction and solubilization of some phenolic antioxidants in Pluronic® micelles / A. Parmar, K. Singh, A. Bahadur [et al.] // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2011. – Vol. 86. – № 2. – P. 319-326.

159. Calorimetric and Scattering Studies on Micellization of Pluronics in Aqueous Solutions: Effect of the Size of Hydrophilic PEO End Blocks, Temperature, and Added Salt / M. Khimani, U. Rao, P. Bahadur, P. Bahadur // *Journal of Dispersion Science and Technology*. – 2014. – Vol. 35. – № 11. – P. 1599-1610.

160. Competitive interactions between components in surfactant-cosurfactant-additive systems / R. Chaghi, L. C. de Ménorval, C. Charnay, J. Zajac // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2010. – Vol. 344. – № 2. – P. 402-409.

161. Ерин К. В. Об изменении распределения частиц и агрегатов по размерам при разбавлении магнитных жидкостей / К. В. Ерин // Коллоидный журнал. – 2017. – № 1. – С. 32-37.

162. Кинетика агрегации гидрозоля ОХ50 в растворах NaCl, исследованная методом динамического светорассеяния / Л. М. Молодкина, Е. В. Голикова, Р. С. Бареева [и др.] // Коллоидный журнал. – 2016. – Т. 78. – № 5. – С. 578-587.

163. Branca C. Aggregation behavior of Pluronic F127 solutions in presence of chitosan/clay nanocomposites examined by dynamic light scattering / C. Branca, G. D'Angelo // Journal of Colloid and Interface Science. – 2019. – Vol. 542. – P. 289-295.

164. Структурообразование неионогенного блоксополимера Pluronic P123 при варьировании температуры / А. С. Завалюева, С. И. Карпов, А. Н. Дубовицкая [и др.] // Коллоидный журнал. – 2024. – Т. 86. – № 4. – С. 446-457.

165. Мицеллообразование неионогенного ПАВ при варьировании условий по данным динамического рассеяния света / А. С. Хлуднева, С. И. Карпов, П. О. Кущев, В. Ф. Селеменев // Материалы IX Всероссийской конференции с международным участием «Физико-химические процессы в конденсированных средах и на межфазных границах» (ФАГРАН-2021). – Воронеж. – 2021. – С. 558-560.

166. Park H. J. Scalable PEO-PPO-PEO triblock copolymer purification from Pluronic through competitive adsorption / H. J. Park, C. Y. Ryu // Polymer. – 2012. – Vol. 53. – № 22. – P. 5052-5059.

167. Structural and therapeutic properties of salicylic acid-solubilized Pluronic solutions and hydrogels / R. Ganguly, S. Kumar, M. Soumya [et al.] // Soft Matter. – 2024. – Vol. 20. – P. 2075-2087.

168. Dynamic light scattering and transmission electron microscopy in drug delivery: a roadmap for correct characterization of nanoparticles and interpretation of results / S. K. Filippov, R. Khusnutdinov, A. Murmiliuk [et al.] // Materials Horizons. – 2023. – Vol. 10. – № 12. – P. 5354-5370.

169. Dynamics of Composition Fluctuations in Diblock Copolymer Solutions Far from and Near to the Ordering Transition / T. Jian, S. H. Anastasiadis [et al.]. – 1994. – Vol. 27. – P. 4762-4773.

170. Stepanek P. Dynamic Light Scattering from Block Copolymer Melts near the Order-Disorder Transition / P. Stepanek, T. P. Lodge. – 1996. – Vol. 29. – P. 1244-1251.

171. Структура и сорбционные свойства мезопористых кремнеземов, синтезированных при варьировании температуры и кремниевой основы / А. С. Хлуднева, С. И. Карпов, Ф. Рёсснер, В. Ф. Селеменев // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2021. – Т. 21. – № 5. – С. 669-680.

172. Хлуднева А. С. Сорбционные свойства мезопористых кремнезёмов, синтезированных при варьировании условий, по отношению к веществам различной полярности / А. С. Хлуднева, С. И. Карпов // Успехи в химии и химической технологии. – 2021. – Т. 35. – № 13 (248). – С. 91-94.

173. Изменение мезофаз Pluronic P123 в водных растворах в присутствии бутанола-1 / А. С. Завалюева, С. И. Карпов, М. Г. Холявка [и др.] // Тезисы докладов Всероссийской конференции «Поверхностные явления в дисперсных системах». – Москва. – 2023. – С. 178.

174. Effect of curcumin and cosolvents on the micellization of Pluronic F127 in aqueous solution / R. K. Thapa, F. Cazzador, K. G. Grønlien, H. H. Tønnesen // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2020. – Vol. 195. – P. 111250.

175. Taraba A. Surfactant-rutin-alcohol interactions: A multi-techniques analysis / A. Taraba, K. Szymczyk, K. Tyszczyk-Rotko // Journal of Molecular Liquids. – 2021. – Vol. 328. – P. 115447.

176. Влияние кверцетина на структурообразование Pluronic P123 в зависимости от состава водно-этанольного растворителя / А. С. Завалюева, С.И. Карпов, А.Н. Дубовицкая, М.Г. Холявка // Тезисы докладов Всероссийской конференции «Поверхностные явления в дисперсных системах». – Москва, 2023. – С. 60.

177. Volkova T. Revisiting the Solubility–Permeability Relationship with Hydrophobic Drug Umifenovir in Pluronic Solutions: Impact of pH and Co-Solvent /

T. Volkova, O. Simonova, G. Perlovich // *Pharmaceutics*. – 2023. – Vol. 15. – № 2. – P. 422.

178. Taraba, A. Spectroscopic studies of the quercetin/rutin-nonionic surfactant interactions / A. Taraba, K. Szymczyk // *Journal of Molecular Liquids*. – 2022. – Vol. 360. – P. 119483.

179. Insights into morphological transition of Pluronic P123 micelles as a function of gallate / H. Luo, K. Jiang, X. Liang [et al.] // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2019. – Vol. 572. – P. 221-229.

180. Карпов С. И. Инфракрасная спектроскопия сорбентов : учебное пособие / С. И. Карпов, В. Ф. Селеменев. – Воронеж : Издательско-полиграфический центр «Научная книга», 2024. – 376 с.

181. Хлуднева А.С. Влияние состава реакционной среды на структуру и сорбционные свойства мезопористых кремнеземов / А.С. Хлуднева, С. И. Карпов // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2022. – Т.22. – № 4. – С. 421-432.

182. Хлуднева А. С. Структура и сорбционные свойства аналогов MCM-41 и SBA-15, синтезированных при варьировании температуры и pH / А. С. Хлуднева, С. И. Карпов // *Материалы IX Всероссийской конференции с международным участием «Физико-химические процессы в конденсированных средах и на межфазных границах» (ФАГРАН-2021)*. – Воронеж. – 2021. – С. 560-563

183. Завалюева А. С. Синтез упорядоченных мезопористых кремнеземов для сорбции полифенольных веществ / А. С. Завалюева, С. И. Карпов // *Тезисы докладов XIV конференции молодых ученых по общей и неорганической химии*. – Москва. – 2024. – С. 109.

184. Завалюева А.С. Синтез аналогов SBA-15 в присутствии потенциальных сорбатов для сорбционного концентрирования и разделения флавоноидов / А. С. Завалюева // *Материалы X Всероссийской конференции с международным участием «Физико-химические процессы в конденсированных средах и на межфазных границах» (ФАГРАН-2024)*. – Воронеж. – 2024. – С. 407-408.

185. Хлуднева А. С. Влияние состава раствора на сорбцию кверцетина наноструктурированным материалом / А. С. Хлуднева, С. И. Карпов // *Физическая*

химия - основа новых технологий и материалов : Сборник тезисов IX Межвузовской конференции-конкурса (с международным участием) научных работ студентов имени члена корреспондента АН СССР Александра Александровича Яковкина. – Санкт-Петербург, 2020. – С. 175-177.

186. Faraji M. Preferential solvation of quercetin in aqueous aprotic solvent mixtures / M. Faraji, A. Farajtabar // *Journal of the Serbian Chemical Society*. – 2020. – Vol. 85. – № 2. – P. 227-236.

187. Хлуднева А.С. Синтез наноструктурированных кремнеземов для сорбции полифенольных веществ / А. С. Хлуднева, С.И. Карпов // *Материалы международной научно–практической конференции «Перспективные технологии и материалы»*. – Севастополь – 2022. – С. 132-135.

188. Карпов С. И. Кинетика и динамика сорбции полифенольных физиологически активных веществ наноструктурированными материалами : специальность 02.00.04 "Физическая химия" : диссертация на соискание ученой степени доктора химических наук / Карпов Сергей Иванович. – Воронеж, 2021. – 388 с.

189. Синтез наноструктурированных кремнеземов для сорбционного концентрирования и разделения полифенольных веществ / А. С. Завалюева, С. И. Карпов // *Сборник тезисов XXII Менделеевского съезда по общей и прикладной химии*. – Сочи. – 2024. – Т. 5. – С. 87.

190. Завалюева А. С. Кинетика сорбции кверцетина упорядоченными мезопористыми кремнеземами с разным типом структуры / А. С. Завалюева, С. И. Карпов // *Сборник тезисов всероссийской с международным участием школы-конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Материалы и технологии XXI века»*. – Казань. – 2023. – С. 140.

191. Magnetic adsorbent based on mesoporous silica nanoparticles for magnetic solid phase extraction of pyrethroid pesticides in water samples / M. Zhang, J. Yang, X. Geng [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2019. – Vol. 1598. – P. 20-29.

192. Хроматографическое разделение и концентрирование кверцетина и (+)-катехина с использованием мезопористых композитов на основе MCM-41 /

С. И. Карпов, Н. А. Беланова, Е. О. Корабельникова [и др.] // Журнал физической химии. – 2015. – Т. 89. – № 5. – С. 855-860.

193. Poole C. F. Contributions of theory to method development in solid-phase extraction / C. F. Poole, A. D. Gunatilleka, R. Sethuraman. // Journal of Chromatography A. – 2000. – Vol. 885. - P. 17-39.

194. Веницианов Е. В. Оптимизация динамического сорбционного концентрирования в аналитической химии / Е. В. Веницианов, И. А. Ковалев, Г. И. Цизин // Теория и практика сорбционных процессов. Межвузовский сборник научных трудов. – 1998. – С. 24.

195. Сорбционное концентрирование микрокомпонентов для целей химического анализа / Ю. А. Золотов, Г. И. Цизин, Е. И. Моросанова, С. Г. Дмитриенко // Успехи химии. – 2005. – Т. 74. – № 1. – С. 41-66.

196. Некоторые задачи динамики сорбции в области линейной изотермы при внешне-диффузионной кинетике / В. В. Веницианов, Б. И. Волков, В. П. Иоффе [и др.] // Заводская лаборатория. – 1971. – № 5. – С. 544.

197. Фронтальная динамика сорбции молекул мезопористыми материалами типа МСМ-41 / Б. М. Даринский, С. И. Карпов, В. Ф. Селеменев, О. О. Крижановская // Журнал физической химии. – 2019. – Т. 93. – № 9. – С. 1385-1391.

198. Динамика сорбции фосфатидилхолина мезопористыми композитами на основе МСМ-41 / Л. А. Синяева, Н. А. Беланова, С. И. Карпов [и др.] // Журнал физической химии. – 2016. – Т. 90. – № 11. – С. 1701-1709.

199. Сорбционно-хроматографическое определение галловой, кофейной кислот, рутина и эпикатехина в лекарственных растениях / З. А. Темердашев, В. В. Милевская, Н. В. Киселева [и др.] // Аналитика и контроль. – 2013. – Т. 17. – № 2. – С. 211-218.

200. Zi J. Solubilities of rutin in eight solvents at T=283.15, 298.15, 313.15, 323.15, and 333.15K / J. Zi, B. Peng, W. Yan // Fluid Phase Equilibria. – 2007. – Vol. 261. – № 1-2. – P. 111-114.

201. Оптимизация разделения некоторых флавоноидов методом ТСХ / Н. А. Беланова, С. И. Карпов, В. Ф. Селеменев [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2011. – Т. 11. – № 6. – С. 905-912.

202. Snyder L. R. Classification of the Solvent Properties of Common Liquids / L. R. Snyder // Journal of Chromatographic Science. – 1978. – Vol. 16. – № 6. – P. 223-234.

203. Снайдер Л. Р. Введение в современную жидкостную хроматографию / Л. Р. Снайдер, Д. Д. Киркленд, Д. У. Долан. – третье издание. – Москва : Рекламно-издательский центр "Техносфера", 2020. – 960 с.

204. Особенности синтеза и сорбционные свойства упорядоченных мезопористых кремнеземов в процессах динамического сорбционного концентрирования флавоноидов / А. С. Завалюева, С. И. Карпов, В. Ф. Селеменев // Сборник трудов всероссийского симпозиума с международным участием «Физико-химические проблемы адсорбции, структуры и химии поверхности нанопористых материалов». – Москва. – 2025. – С. 45.

205. Pipette tip solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography for the determination of flavonoids from *Epimedium herba* in rat serum and application of the technique to pharmacokinetic studies / N. Wang, X. Huang, X. Wang [et al.] // Journal of Chromatography B. – 2015. – Vol. 990. – P. 64-72.

206. Определение катехинов методами ТСХ и УФ спектрофотометрии / Н. А. Беланова, С. И. Карпов, В. Ф. Селеменев, Е. О. Чепелева // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2011. – Т. 77. – № 12. – С. 21-23.

207. Liu W. Interaction between flavonoid, quercetin and surfactant aggregates with different charges / W. Liu, R. Guo // Journal of Colloid and Interface Science. – 2006. – Vol. 302. – № 2. – P. 625-632.

208. Barker, S. A. Isolation of drug residues from tissues by solid phase dispersion. / S. A. Barker, A. R. Long, C. R. Short // Journal of Chromatography. – 1989. – Vol. 475. – P. 353-361.

209. Твердофазная экстракция флавоноидов упорядоченными мезопористыми кремнеземами, синтезированными в присутствии потенциальных

сорбатов, как стадия хроматографического анализа / А. С. Завалюева, С. И. Карпов, В. Ф. Селеменев // Материалы XII Менделеевского съезда по общей и прикладной химии. – Сочи. – 2024. – Т. 4. – С. 60.

210. Садек П. Растворители для ВЭЖХ / П. Садек; П. Садек ; пер. с англ. А.А. Горбатенко и Е.И. Ревинной. – Москва : Бином. Лаб. знаний, 2006. – 704 с.