

Том 79, Номер 8

ISSN 0044-4502
Август 2024



ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ



НАУКА

— 1727 —

СОДЕРЖАНИЕ

Том 79, номер 8, 2024

ОБЗОРЫ

Методы выделения органических соединений из твердых образцов.

1. Жидкостная экстракция. Обзор обзоров

*С. Г. Дмитриенко, В. В. Аняри, В. В. Толмачева, М. В. Горбунова,
А. А. Фурлетов, Ю. А. Золотов*

811

Методы исследования примесного состава высокочистой серы

М. Ф. Чурбанов, И. В. Скрипачев, А. Ю. Созин, И. И. Евдокимов

825

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Строение 2-(((1-(3-бромфенил)этилиден)гидразоно)метил) фенола и его применение в спектрофотометрическом определении железа(III)

Ч. А. Мамедова, С. Р. Гаджиева, Ф. С. Алиева, Ф. М. Чырагов

835

Термодинамическое моделирование состава основных фоновых ионов в низкотемпературной (“холодной”) индуктивно связанной плазме

*А. А. Пупышев, П. В. Зайцева, М. Ю. Бурылин, М. А. Мальцев,
И. В. Морозов, Е. Л. Осина*

842

Сорбционное перераспределение летучих органических веществ в смешанной системе газ—жидкий кристалл—макроцикл—адсорбент в условиях обращенной газовой хроматографии

Г. В. Кувшинов, Л. О. Монахов, А. А. Кузьмина, А. С. Семейкин, О. И. Койфман

854

Газохроматографический анализ распределения γ -гексахлорциклогексана в сельскохозяйственных культурах

Д. Э. Мусабилов, Р. А. Даукаев, Д. О. Каримов, В. Ю. Гуськов

863

Систематизация газохроматографических параметров триметилсилильных производных аминокислот

И. Г. Зенкевич

870

Сложности хромато-масс-спектрометрической идентификации продуктов свободнорадикального хлорирования индана

И. Г. Зенкевич, Е. В. Елисеенков, А. И. Уколов

882

Совместное определение девяти уремических токсинов и холина в сыворотке крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием

Т. И. Алюшина, Е. И. Савельева, В. А. Добронравов

900

Определение девяти фосфорорганических пестицидов методом ВЭЖХ-МС/МС высокого разрешения в лекарственном растительном сырье

О. В. Фатеевкова, А. М. Савватеев, А. В. Браун, В. Л. Белобородов, И. В. Гравель

910

Проточно-инжекционное амперометрическое определение цефтриаксона, цефотаксима и цефоперазона на электроде, модифицированном бинарной системой из частиц золота и смешанновалентных оксидов рутения

Л. Г. Шайдарова, И. А. Челнокова, М. А. Ильина, Г. К. Будников

924

CONTENTS

Analytical Chemistry, Vol. 79, No. 8, 2024

REVIEWS

Methods for the extraction of organic compounds from solid samples. 1. liquid extraction.

Review of reviews

S. G. Dmitrienko, V. V. Apyari, V. V. Tolmacheva, M. V. Gorbunova, A. A. Furletov, Yu. A. Zolotov 811

Methods for investigating the impurity composition of high-purity sulfur

M. F. Churbanova, I. V. Skripacheva, A. Yu. Sozina, I. I. Evdokimova 825

ORIGINAL ARTICLES

Structure of 2-(((1-(3-bromophenyl)ethylidene)hydrazono)methyl)phenol and its application in the spectrophotometric determination of iron(iii)

Ch. A. Mamedova, S. R. Gadzhieva, F. S. Alieva, F. M. Chyragov 835

Thermodynamic modeling of the composition of main background ions in low-temperature ("cold") inductively coupled plasma

A. A. Pupyshev, P. V. Zaitceva, M. Yu. Burylin, M. A. Maltsev, I. V. Morozov, E. L. Osina 842

Sorptive redistribution of volatile organic compounds in a mixed gas–liquid crystal–macrocycle–adsorbent system under reversed gas chromatography conditions

G. V. Kuvshinov, L. O. Monakhov, A. A. Kuzmina, A. S. Semeykin, O. I. Koifman 854

Gas chromatographic analysis of γ -hexachlorocyclohexane distribution in agricultural crops

D. E. Musabirov, R. A. Daukaev, D. O. Karimov, V. Y. Guskov 863

Systematization of the gas-chromatographic parameters of trimethylsilyl derivatives of amino acids

I. G. Zenkevich 870

Complexities of chromato-mass spectrometric identification of products of free radical chlorination of indane

I. G. Zenkevich, E. V. Eliseenkov, A. I. Ukolov 882

Joint determination of nine uremic toxins and choline in blood serum using high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection

T. I. Alyushina, E. I. Savelyeva, V. A. Dobronravov 900

Determination of nine organophosphorus pesticides by high-resolution hplc-ms/ms in medicinal plant materials

O. V. Fateenkova, A. M. Savvateev, A. V. Braun, V. L. Beloborodov, I. V. Gravel 910

Flow-injection amperometric determination of ceftriaxone, cefotaxime, and cefoperazone on an electrode modified with a binary system of gold particles and mixed-valence ruthenium oxides

L. G. Shaidarova, I. A. Chelnokova, M. A. Ilyina, G. K. Budnikov 924

УДК 543.068, 543.05, 543.63

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ИЗ ТВЕРДЫХ ОБРАЗЦОВ. 1. ЖИДКОСТНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ. ОБЗОР ОБЗОРОВ

© 2024 г. С. Г. Дмитриенко^a, В. В. Апяри^a, В. В. Толмачева^{a,*}, М. В. Горбунова^a,
А. А. Фурлетов^a, Ю. А. Золотов^{a,b}

^aМосковский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет,
Ленинские горы, 1, стр. 3, Москва, ГСП-1, 119991, Россия

^bИнститут общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук
Ленинский просп., 31, Москва, 119991, Россия

*E-mail: nikatolm@mail.ru

Поступила в редакцию 13.02.2024 г.

После доработки 04.03.2024 г.

Принята к публикации 05.03.2024 г.

В первой части обзора приводятся общие сведения о жидкостной экстракции органических соединений из твердых образцов и обсуждаются различные способы ее осуществления: экстракция в аппарате Сокслета, ультразвуковая экстракция, экстракция в микроволновом поле. На основании анализа обзорных работ систематизирована информация об особенностях пробоподготовки с помощью этих методов, рассмотрены экспериментальные параметры, влияющие на эффективность экстракции, приведены примеры использования этих методов для выделения органических соединений при анализе твердых объектов окружающей среды, пищевых продуктов и растений.

Ключевые слова: жидкостная экстракция из твердых матриц, экстракция в аппарате Сокслета, ультразвуковая экстракция, экстракция в микроволновом поле, органические соединения.

DOI: 10.31857/S0044450224080015, EDN: tkueeo

Органические соединения, особенно при низких их концентрациях и в случае анализа сложных объектов, определяют чаще всего методом хромато-масс-спектрометрии. Современный уровень развития этих методов позволяет достичь таких чувствительности и селективности, которые трудно было представить еще несколько десятилетий назад [1–3]. Однако, несмотря на это, в большинстве случаев определение по-прежнему невозможно без предварительной пробоподготовки [4–6]. В процессе пробоподготовки целевые аналиты извлекают из анализируемых образцов, удаляют мешающие определению компоненты, устраняют матричные эффекты, концентрируют, иногда дериватизируют и переводят в матрицу, совместимую с методом последующего определения [6]. Этот этап анализа является одним из самых сложных и трудоемких. В частности, подготовка проб, по некоторым оценкам, занимает примерно 60% времени, затрачиваемого на лабораторный анализ, и является источником около 30% экспериментальных погрешностей [7].

За последние двадцать пять лет для выделения органических соединений из жидких проб разработаны и успешно применяются различные миниатюризированные, а иногда и упрощенные процедуры пробоподготовки, соответствующие принципам зеленой аналитической химии [7, 8]. За это время появилось много новых методов микроэкстракционного выделения и концентрирования органических соединений из водных растворов, таких как капельная микроэкстракция (single-drop microextraction) [9, 10], мембранная микроэкстракция в полое волокно (hollow fiber liquid-phase microextraction) [10, 11], дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция (dispersive liquid-liquid microextraction) [12, 13], гомогенная жидкостно-жидкостная микроэкстракция (homogeneous liquid-liquid microextraction) [14, 15], твердофазная микроэкстракция пипеткой (pipette-tip solid-phase microextraction) [16, 17], твердофазная микроэкстракция (solid-phase microextraction) [18, 19], экстракция палочкой магнитной мешалки (stir-bar sorptive extraction) [20, 21], микроэкс-

тракция в набивном патроне (microextraction by packed sorbent) [22, 23], магнитная твердофазная экстракция (magnetic solid-phase extraction) [24, 25], дисперсионная твердофазная экстракция (dispersive solid-phase extraction) [25, 26].

Анализ ряда последних обзоров, посвященных пробоподготовке почв и других твердых образцов окружающей среды [27–40], пищевых продуктов [41–47], растений [48–54], косметической продукции и средств личной гигиены [55–58], указывает на то, что для выделения органических соединений из твердых объектов используют жидкостную экстракцию при встряхивании, экстракцию в аппарате Сокслета, ультразвуковую экстракцию, экстракцию в микроволновом поле, жидкостную экстракцию под давлением, экстракцию субкритической водой, сверхкритическую флюидную экстракцию, матричную твердофазную дисперсию и метод QuEChERS. Неселективный характер этой первичной обработки делает обязательной последующую очистку полученного экстракта, сначала путем удаления нерастворимых частей образца, а затем, при необходимости, очистку и/или концентрирование аналитов в получаемых экстрактах с использованием ранее упомянутых различных вариантов жидкостно-жидкостной или твердофазной экстракции/микроэкстракции.

В первой части настоящего обзора обобщены обзорные статьи, описывающие традиционные способы выделения органических соединений из твердых образцов, таких как жидкостная экстракция при встряхивании, экстракция в аппарате Сокслета, ультразвуковая экстракция и экстракция в микроволновом поле. Дана общая характеристика методов, рассмотрены способы осуществления, перечислены экспериментальные параметры, влияющие на эффективность выделения органических соединений, приведены примеры практического применения методов в процессе пробоподготовки различных объектов.

ЖИДКОСТНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ ИЗ ТВЕРДЫХ МАТРИЦ

Жидкостная экстракция из твердых матриц (solid-liquid extraction, SLE) основана на распределении вещества в системе твердое тело–жидкость (обычно органический растворитель, реже вода). Классический вариант осуществления жидкостной экстракции из твердых матриц заключается в механическом встряхивании анализируемого твердого образца с выбранным растворителем в течение определенного времени [59, 60]. Для этого в сосуд для встряхивания помещают навеску тщательно измельченного твердого образца (оптимальный размер частиц зависит от анализируемого объекта и изменяет-

ся от 0.5 до 8 мм), добавляют выбранный растворитель и перемешивают содержимое в течение определенного времени (обычно от 15–30 мин до нескольких часов). Фазы разделяют фильтрованием. Процесс экстрагирования протекает в несколько этапов. Сначала экстрагент смачивает твердое вещество и проникает во внутренние пустоты – микро- и макротрещины частиц твердой фазы. Далее происходит растворение и вывод извлекаемого вещества в экстрагент, находящийся внутри твердой фазы, а затем в приповерхностный слой экстрагента – диффузионный пограничный слой, после чего в объем экстрагента. Пограничный диффузионный слой, образующийся на поверхности твердых частиц, оказывает большое сопротивление дальнейшему переносу экстрагируемых веществ в экстрагент. Толщина этого слоя зависит от скорости перемешивания экстрагента. Чем больше скорость перемешивания, тем меньше толщина пограничного слоя [59].

Экстрагирование – сложный физико-химический процесс, на который влияет ряд факторов, основным из которых является природа растворителя, от его правильного подбора зависит не только полнота извлечения нужного компонента, но и селективность экстрагирования [48, 59]. Желательно, чтобы выбранный растворитель обладал избирательностью и в максимальной степени растворял нужные аналиты и в минимальной – другие вещества, присутствующие в твердом образце. Кроме того, при выборе растворителя учитывают такие параметры, как летучесть, чистота, токсичность, доступность, стоимость. Важно правильно подобрать отношение растворитель–твердый образец; степень извлечения соединений возрастает при увеличении объема растворителя. Для уменьшения объема экстракта лучше провести несколько последовательных извлечений малыми порциями экстрагента, чем один раз большой. Кроме того, количество извлеченного вещества зависит от степени измельченности образца, интенсивности перемешивания и времени контакта фаз [59].

В качестве растворителей для извлечения гидрофильных органических соединений из почв, растений, продуктов питания и других твердых материалов чаще всего используют ацетонитрил, метанол, этанол, ацетон, этилацетат и их смеси с водой [38, 45, 48, 49, 59]. Для извлечения гидрофобных органических соединений используют диэтиловый эфир, пентан, гексан, смеси гексана с ацетоном, толуол, метиленхлорид и ряд других растворителей [31, 46, 59]. В качестве альтернативных растворителей, нашедших применение для выделения органических соединений из твердых матриц, в последние годы начали использовать супрамолекулярные

растворители, ионные жидкости и глубокие эвтектические растворители [48, 49, 61–64].

Помимо цитируемых выше обзоров, применению жидкостной экстракции для выделения органических соединений из твердых образцов посвящены отдельные разделы в других обзорах [27, 32, 41, 45, 46, 50, 51, 53–55, 58]. В этих обзорах в информативных таблицах представлена информация об условиях выделения 4-алкилфенолов и бисфенола А из речных и морских осадков [32]; пестицидов из почв [40]; пестицидов [41] и неоникотиноидов [45] из различных пищевых продуктов; фталатов, бензотиазолов и бензотриазолов из морских продуктов [46]; пестицидов из специй и растений [50]; кверцетина и его гликозидов [51], полифенолов и других биологически активных веществ из растений [49, 51, 53, 54] и сельскохозяйственных остатков [49]; различных органических соединений из осадков сточных вод [27], косметической продукции и средств личной гигиены [55, 58].

Основной недостаток этого старейшего и самого простого способа пробоподготовки твердых образцов заключается в медленном установлении равновесия и, как следствие, значительными затратами времени на пробоподготовку. Кроме того, к недостаткам метода относят неполное выделение целевых аналитов. Для повышения эффективности экстракционного извлечения применяют нагревание, ультразвуковое и микроволновое излучение. При этом различают экстракцию в аппарате Сокслета, ультразвуковую экстракцию, экстракцию в микроволновом поле. Ниже дана более подробная характеристика этих вариантов жидкостной экстракции из твердых матриц.

ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ЖИДКОСТНОЙ ЭКСТРАКЦИИ ИЗ ТВЕРДЫХ МАТРИЦ

Экстракция по Сокслету. Подробную информацию об особенностях осуществления экстракции по Сокслету можно найти в обзорах [65–69]. Экстракция по Сокслету является одним из старейших методов жидкостной экстракции из твердых матриц, который предложен в 1879 г. немецким химиком Францем фон Сокслетом для выделения жира из молока. Классическую экстракцию по Сокслету проводят в аппарате Сокслета, который состоит из колбы для растворителя, экстрактора и шарикового холодильника. Принцип действия экстрактора заключается в следующем. В круглодонную колбу емкостью 0.5–1 л наливают 30–100 мл выбранного растворителя, а в экстрактор помещают измельченный твердый материал (1–10 г), упакованный в экстракционные гильзы из высокочистой целлюлозы (фильтровальной бумаги) или в марлевый

мешочек. При нагревании колбы пары растворителя поднимаются вверх и конденсируются в холодильнике. Образующийся конденсат падает в экстрактор. По мере подъема уровня растворителя в него переходят все большие количества экстрагируемых компонентов. После того как уровень растворителя достигнет верхнего уровня сифона, растворитель сливается в колбу, и процесс продолжается. По окончании экстракции растворитель с выделенными компонентами переносят из колбы в подходящую емкость и упаривают до нужного объема. Таким образом, прибор позволяет проводить многократную экстракцию в непрерывном режиме за счет повторного использования относительно небольшого объема растворителя, при этом экстрагируемое вещество накапливается в основной колбе. Еще одно достоинство способа заключается в том, что после экстрагирования не требуется отделять остатки твердой пробы фильтрованием [65, 67, 69].

При экстракции по методу Сокслета обычно приходится решать две основные проблемы: во время почти всего периода экстракции экстракт находится при температуре кипения растворителя, что может привести к разложению термически неустойчивых извлекаемых веществ, кроме того, получаемый экстракт обычно сильно разбавлен растворителем. К недостаткам метода относят также длительность процесса: обычно экстракцию в аппарате Сокслета проводят в течение 12–24 ч, а иногда время экстракции может быть увеличено до нескольких суток [65, 69].

Со временем недостатки, присущие классическому варианту экстракции по Сокслету, были частично устранены за счет появления коммерчески доступных автоматизированных систем, которые получили коммерческое название Soxtec (1975 г.) [65, 68, 69]. Производители полностью автоматизированных и полуавтоматических экстракционных систем сосредоточились на простоте и безопасности традиционной методики Сокслета, а также на ускорении процесса экстракции. Современные автоматизированные установки Сокслета представляют собой в основном 2-, 4-, 6-местные системы, которые обеспечивают повышенную пропускную способность проб. Автоматизированные системы экстракции работают в 5–6 раз быстрее, чем обычные системы Сокслета [69]. Кроме того, разработаны модифицированные версии экстрактора Сокслета, такие как сфокусированные экстракторы, работающие в микроволновой печи [66, 68, 69], экстракторы, работающие под высоким давлением [68, 69], экстракторы с ультразвуковой поддержкой [68, 69] и ряд других [69].

В настоящее время экстракцию в аппарате Сокслета используют для выделения полици-

клических ароматических углеводородов (ПАУ) [33, 35–37], полибромированных дифенилов [31], алкилфенолов и бисфенола А [30, 32] и многих других средне- и труднолетучих органических соединений [27–30, 34] из почв и донных отложений; каротиноидов [42] и жиров [43] из пищевых продуктов. В перечисленных выше обзорах в таблицах приведены условия выделения органических соединений по Сокслету: перечислены растворители, масса пробы и объемы растворителей, указано время экстракции и степени выделения аналитов.

Методы, основанные на экстракции по Сокслету, по-прежнему используются в качестве эталонных и стандартных методов во многих лабораториях для сравнения с эффективностью других методов выделения органических соединений из твердых образцов [68]. Так, например, экстракция по Сокслету рекомендована Агентством по охране окружающей среды США (EPA) и Национальным управлением океанических и атмосферных исследований (NOAA) для извлечения ПАУ из проб донных отложений [35]. В 1994 г. автоматизированная экстракция по Сокслету была одобрена EPA в качестве стандартного метода [27]. Во многих официальных методиках экстракцию по Сокслету используют в качестве основного способа выделения жиров из различных пищевых продуктов [44].

Ультразвуковая экстракция (УЗЭ, *ultrasound-assisted extraction, UAE*). Перечень обзоров, посвященных применению ультразвука для интенсификации жидкостной экстракции органических соединений из различных твердых матриц, в хронологическом порядке приведен в табл. 1 [70–86]. Историческая справка о развитии метода дана в обзоре [79]. Во всех обзорах, посвященных этому методу, отмечается, что ультразвуковая экстракция является эффективным, экологически безопасным способом извлечения органических аналитов из твердых образцов различных типов за счет снижения объема растворителя и сокращения времени экстракции по сравнению с классическими процедурами жидкостной экстракции из твердых матриц.

Для проведения УЗЭ необходимо иметь ультразвуковую ванну либо ультразвуковой зонд. В отличие от ультразвуковой ванны, мощность облучения которой невысока и составляет от 1–5 Вт/см², при прямом погружении ультразвуковых зондов обеспечивается в 100 раз более высокая мощность ультразвука. Ультразвуковая экстракция с применением ультразвуковых зондов получила название фокусированной УЗЭ [80, 85]. Выбор типа ультразвукового устройства зависит от решения конкретной аналитической задачи. Ультразвуковые зонды в большинстве случаев обеспечивают более высокие степени выделения аналитов за заметно меньшее время

(5–10 мин) по сравнению с ультразвуковыми водяными банями (10–60 мин), но они не очень удобны при работе с большим числом образцов, поскольку обработка выполняется по одному образцу за раз. Кроме того, при работе с зондами необходимо учитывать большую вероятность потерь и разрушения органических соединений в результате усиленного эффекта дегазации и нагрева среды [80]. Напротив, ультразвуковая ванна более экономична и проста в обращении, но ее отличает невысокая воспроизводимость [82]. С примерами различных коммерческих ультразвуковых устройств, нашедших применение в УЗЭ, можно ознакомиться в обзорах [70, 71, 75, 76, 78, 79]. Схема проведения ультразвуковой экстракции из твердых образцов с использованием ультразвукового зонда или ультразвуковой ванны приведена на рис. 1 [80].

Ультразвуковые колебания оказывают разное влияние на систему твердое тело–жидкость, которое можно свести к следующим эффектам: тепловое воздействие в результате поглощения ультразвуковой энергии; увеличение массообмена в порах твердой фазы за счет аномально глубокого проникновения жидкости в капилляры и узкие щели твердой матрицы; ускорение процессов диффузии. К основным механизмам воздействия ультразвука на твердое вещество относят акустические течения и кавитацию. Акустические течения носят вихревой характер и всегда возникают при поглощении ультразвуковой энергии жидкостью, вызывая ее регулярное движение и, как следствие, интенсификацию массообменных процессов. Ультразвуковая кавитация заключается в образовании в жидкости под действием ультразвука большого числа пульсирующих пузырьков, заполненных паром, газом или их смесью (рис. 2). Кавитационные пузырьки в некоторой области жидкости возникают всякий раз, когда до этой области доходит фаза разрежения ультразвуковой волны. Как правило, кавитационные пузырьки долго не живут: уже следующая за разрежением фаза сжатия приводит к схлопыванию большей их части, так называемому кавитационному коллапсу. В жидкости существуют многие тысячи таких пузырьков, в момент схлопывания которых повышаются давление и температура (по некоторым данным до 1000 атм (100 МПа) и 1000°C). Изменения температуры и давления, возникающие в результате коллапса, генерируют ударные волны (со скоростью 100 м/с), которые, в свою очередь, приводят к усилению массопереноса целевых соединений в растворитель. Высокие локальные температуры внутри схлопывающихся кавитационных пузырьков могут вызвать увеличение растворимости аналита и диффузии растворителя внутри твердых частиц. Высокое давление, возникающее во время взрыва мик-

Таблица 1. Хронология обзоров, посвященных ультразвуковой и микроволновой экстракции органических соединений из твердых матриц

Год	Тематика обзора	Литература
Ультразвуковая экстракция (УЗЭ)		
2003	Первый обзор по применению ультразвука для экстракции соединений из твердых образцов	[70]
2007	Приведена информация о различных типах ультразвуковых устройств и особенностях их применения в УЗЭ	[71]
2010	Применение УЗЭ для определения ПАУ, пестицидов, лекарственных веществ и других органических соединений в продуктах питания и почвах	[72]
2012	Рассмотрены различные варианты пробоподготовки твердых образцов с позиций зеленой аналитической химии, включая УЗЭ	[73]
	Кратко описан механизм воздействия ультразвука на экстракционную систему твердое тело—жидкость. Приведены примеры применения УЗЭ в анализе почв и пищевых продуктов	[74]
2013	Обзор работ по применению УЗЭ в пробоподготовке объектов окружающей среды и пищевых продуктов за период 2010–2012 гг.	[75]
2015	Принцип УЗЭ и факторы, влияющие на УЗЭ	[76]
	Применение УЗЭ в пробоподготовке почв, отложений и ила за период 2010–2014 гг.	[77]
2017	УЗЭ в пробоподготовке пищевых и натуральных продуктов. Принцип метода, факторы, способы осуществления	[78]
	Применение УЗЭ и МВЭ для выделения соединений из растений. Историческая справка развития УЗЭ	[79]
2019	Обзор работ по применению УЗЭ в пробоподготовке объектов окружающей среды и пищевых продуктов за период 2013–2018 гг.	[80]
	УЗЭ биологически активных соединений из растительных, животных и морских источников	[81]
2020	УЗЭ биологически активных соединений из побочных продуктов переработки фруктов и овощей	[82]
2021	УЗЭ в пробоподготовке рыб и морепродуктов. Примеры выделения из этих объектов ПАУ, пестицидов, стойких органических загрязнителей, антипиренов, красителей, фармацевтических препаратов и средств личной гигиены	[83]
2022	УЗЭ пищевых красителей: принцип, механизм, техника экстракции и применение	[84]
2023	Обзор работ по применению УЗЭ в пробоподготовке объектов окружающей среды, пищевых продуктов и биологических объектов за период 2018–2022 гг.	[85]
	УЗЭ биологически активных соединений: принцип, преимущества, оборудование	[86]
Микроволновая экстракция (МВЭ)		
1999	Первый обзор по МВЭ органических соединений	[89]
2000	МВЭ в анализе объектов окружающей среды	[90]
	Теоретические основы МВЭ. Параметры, влияющие на МВЭ. Примеры применения для выделения стойких органических загрязнителей, пестицидов, фенолов	[91]
2001	Достоинства и недостатки МВЭ по сравнению с жидкостной экстракцией под давлением и сверхкритической флюидной экстракцией	[92]
2002	Микроволновое излучение в аналитической химии: возможности и перспективы использования	[93]
2003	Обзор различных микроволновых экстракторов открытого и закрытого типа	[94]

Год	Тематика обзора	Литература
2006	Применение МВЭ в пробоподготовке объектов окружающей среды	[95]
	Обзор работ по применению МВЭ в пробоподготовке объектов окружающей среды, пищевых продуктов и биологических объектов за период 2000–2006 гг.	[96]
2008	Онлайн-сочетания МВЭ с методами последующего определения	[97]
2009	МВЭ лекарств и других биологически активных соединений	[98]
2010	МВЭ антипиренов, поверхностно-активных веществ, фармацевтических средств и средств личной гигиены из твердых объектов окружающей среды	[99]
2011	Рассмотрены различные процедуры осуществления МВЭ применительно к выделению органических соединений из растений	[100]
	МВЭ фитокомпонентов растений: принцип, способы осуществления, параметры	[101]
2015	Обзор работ по применению МВЭ в пробоподготовке объектов окружающей среды и биологических объектов за период 2000–2015 гг.	[102]
2016	Обзор работ по применению МВЭ для выделения органических соединений из объектов окружающей среды, пищевых продуктов и биологических объектов за период 2008–2015 гг.	[103]
	Критический анализ тенденций публикаций в 2005–2015 гг. об МВЭ растений: как далеко мы продвинулись и какой путь предстоит?	[104]
	Обзор работ по применению МВЭ для выделения фенольных соединений: тенденции и проблемы	[105]
2019	МВЭ для выделения лекарственных веществ, средств личной гигиены и промышленных загрязняющих веществ из объектов окружающей среды	[106]
2021	МВЭ биологически активных соединений из трав	[107]
2023	МВЭ биологически активных соединений из растений	[108]
	МВЭ в закрытых сосудах в анализе пищевых продуктов	[109]



Рис. 1. Схема проведения ультразвуковой экстракции из твердых образцов с использованием ультразвукового зонда (а) или ультразвуковой ванны (б) [80].

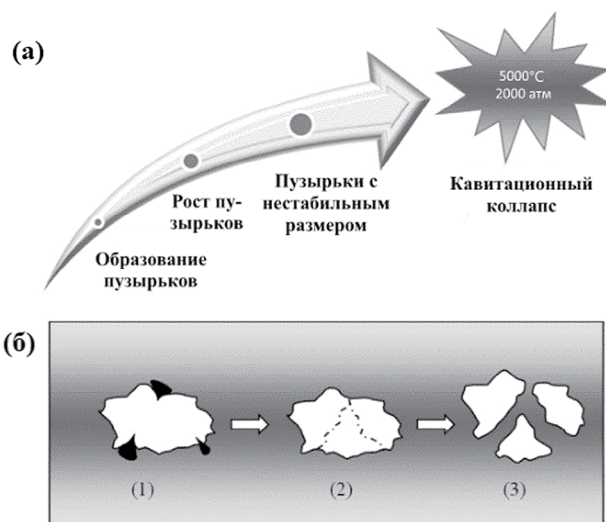


Рис. 2. Явление кавитации. (а) Развитие и коллапс кавитационных пузырьков. (б) Кавитационный коллапс на границе твердого тела и жидкости. Последовательность (1)–(3) показывает схему фрагментации или разрушения твердых частиц, что приводит к уменьшению их размера (увеличению площади поверхности) [73].

ропузырьков, улучшает проницаемость и перенос растворителя. Обновление поверхности, вызванное фрагментацией частиц, позволяет большому количеству аналита вступить в контакт с растворителем. В биологических образцах происходит разрушение клеток с последующим высвобождением инкапсулированных аналитов. Окислению органических матриц должно также способствовать образование окислительных радикалов в объеме жидкости. Более подробно с механизмом воздействия ультразвука на экстракционную систему твердое тело–жидкость можно ознакомиться в обзорах [73, 74, 76, 78, 79].

Экспериментальные параметры, влияющие на УЗЭ, систематизированы в обзорах [76, 78, 80, 82, 86]. Полнота извлечения органических соединений в первую очередь зависит от частоты и мощности ультразвука, природы растворителя, температуры. Частота и мощность ультразвукового излучения регламентируются типом используемого оборудования, и эти параметры не всегда можно варьировать, так как большинство ультразвуковых систем, используемых в аналитических лабораториях, работает на определенной частоте. Чаше всего УЗЭ проводят при частотах от 20 до 100 кГц и мощности от 20 до 700 Вт, причем более высокая эффективность экстракции наблюдается в низкочастотном диапазоне (20–40 кГц) [78, 82]. Выбор растворителя определяется растворимостью целевых аналитов, а также такими свойствами растворителя, как вязкость, поверхностное натяжение и давление паров, влияющими на кавитацию и, в частности, на порог кавитации [76]. Температура пробы неоднозначно влияет на полноту извлечения органических соединений. При повышении температуры увеличивается растворимость аналитов в выбранном растворителе и возрастает скорость диффузии соединений, что способствует более полному их извлечению. С другой стороны, повышение температуры приводит к уменьшению вязкости и поверхностного натяжения, а также вызывает увеличение давления пара, что может снижать эффективность экстракции за счет ослабления эффекта кавитации [78, 80, 82]. Другими факторами, которые влияют на эффективность экстракции, являются время обработки ультразвуком, размер частиц образца, соотношение твердого вещества и растворителя [76, 78, 82].

Информацию о практическом применении УЗЭ для выделения органических соединений перед их хроматографическим определением можно найти не только в обзорах, перечисленных в табл. 1 [72, 74, 77, 81–86], но и в обзорах, посвященных выделению отдельных классов органических соединений из твердых матриц [27, 34–37, 39, 42, 46–51, 53–58]. Этот способ пробоподготовки часто используют в анализе твердых

объектов окружающей среды [27, 35–37, 39, 40, 74, 75, 77, 80, 85], пищевых продуктов [42, 46, 47, 72, 74, 75, 78, 80, 83–85], растений и фруктов [48–51, 53, 54, 79, 81, 82, 86], косметической продукции и средств личной гигиены [34, 55–58]. В этих обзорах в таблицах приведены условия ультразвуковой пробоподготовки, которые используют при выделении пестицидов [40, 47, 72, 83, 85], ПАУ [35–37, 72, 77, 83, 85], лекарственных веществ [34, 72, 77, 83, 85], биологически активных соединений [49–51, 53, 54, 81, 82, 86], красителей [83, 84], фталатов [39, 46], каротиноидов [42] и многих других органических соединений. В обзоре 2023 г. [85] приведена информация об условиях проведения УЗЭ для многокомпонентного (от 11 до 180 соединений) выделения органических соединений разных классов из осадков, почв и пищевых продуктов. Там же указаны методы, которые использовали для дополнительной очистки полученных экстрактов. В настоящее время УЗЭ, несомненно, является одним из наиболее широко используемых методов выделения органических соединений из твердых образцов благодаря простоте метода, доступности и невысокой стоимости ультразвуковых ванн и зондов, возможности использования широкого круга растворителей с различной полярностью и применимости в анализе самых разнообразных органических аналитов и объектов.

Микроволновая экстракция (МВЭ, micro-wave-assisted extraction, MAE). В процессах пробоподготовки микроволновую энергию используют с начала 70-х гг. прошлого столетия: сначала для минерализации различных твердых матриц перед определением в них элементов [87], а с 1986 г. и для извлечения органических соединений из твердых образцов [88]. Замечательное свойство микроволнового излучения ускорять извлечение органических соединений из твердых матриц и делать его более эффективным способствовало быстрому развитию метода, о чем косвенно свидетельствует перечень обзоров в хронологическом порядке, перечисленных в табл. 1 [89–109]. С точки зрения “зеленой” аналитической химии МВЭ обладает рядом достоинств, основные из которых заключаются в использовании небольшого количества растворителей, значительном сокращении времени экстракции, частичной или полной автоматизации аналитического процесса и возможности его онлайн-сочетания с методами последующего определения [94, 97, 103]. Историческая справка о развитии метода МВЭ приведена в обзорах [89, 91, 96]. Развитию метода МВЭ во многом способствовало появление коммерчески доступного аналитического оборудования — МВ-систем закрытого или открытого типа [92]. В последние 10 лет МВЭ все чаще используют в технологических процессах для извлечения биологически активных веществ из растительного сырья [104, 105, 107, 108].

Теоретические основы микроволнового нагрева и основные принципы использования микроволновой энергии для экстракции кратко изложены в обзорах [79, 90–93, 98, 99, 102]. В МВЭ микроволновая энергия используется для нагрева растворителей, контактирующих с твердым образцом. Микроволновой нагрев основан на прямом воздействии микроволн на молекулы растворителя посредством ионной проводимости и вращения диполя. Под ионной проводимостью понимают индуцированную электрофоретическую миграцию ионов под действием электромагнитного поля. Сопротивление раствора этому потоку ионов приводит к трению и, таким образом, к нагреву раствора. Вращение диполя происходит, когда биполярные молекулы пытаются ориентироваться по электрическому полю, создаваемому микроволнами. На частоте 2450 МГц, которая используется в коммерческих микроволновых системах, диполи переориентируются 4.9×10^9 раз в секунду, и это вынужденное движение молекул также приводит к нагреву. В отличие от традиционного термического нагрева, микроволновый нагрев осуществляется равномерно по всему объему, вследствие чего температура раствора оказывается выше его окружения (стенок сосуда, газовой фазы над раствором и т.д.), и раствор может нагреться до температуры, превышающей температуру кипения при атмосферном давлении, что значительно сокращает время экстракции.

Микроволновую экстракцию проводят с использованием специального оборудования, которое выпускает ряд фирм (рис. 3). Существуют микроволновые экстракторы открытого и закрытого типов. В экстракторах открытого типа процесс экстракции проходит в колбе, которая через обратный холодильник соединена с атмосферой. Микроволновое излучение фокусируется на дне колбы, где находится образец. За один раз таким способом можно провести экстракцию только из одного образца. Чаще всего в аналитических лабораториях используют микроволновые системы закрытого типа, в которых воздействие микроволновой энергии на образцы осуществляется при контролируемых давлении и температуре [90, 91, 94]. Микроволновая система закрытого типа состоит из магнетрона (магнетронной трубки) и устройств контроля температуры и давления. Магнетрон генерирует с помощью волновода микроволновое излучение в рабочий объем печи, в которой на вращающемся роторе расположены герметичные экстракционные сосуды, способные выдерживать значительное давление (порядка 100 атм и выше). Современные системы для МВЭ позволяют одновременно проводить пробоподготовку до 40 образцов всего за 10–15 мин [106]. Быстрый нагрев, наличие систем перемешивания и быстрого охлаждения по окончании реакции позволяют контролировать время нагрева,

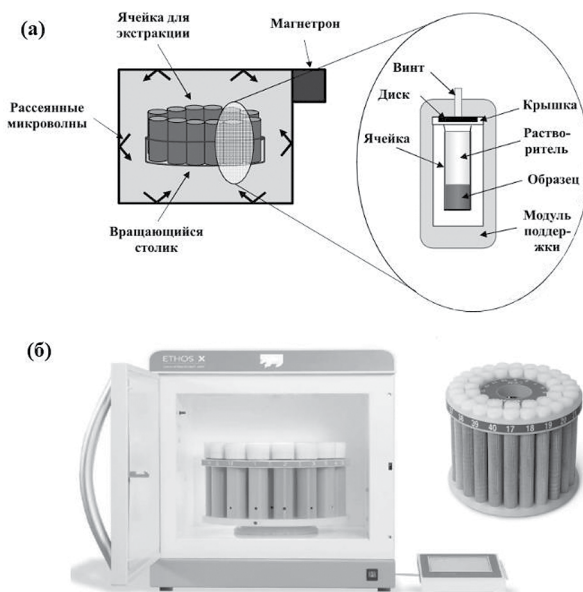


Рис. 3. (а) Принцип микроволновой экстракции в закрытых сосудах. (б) Коммерческий прибор для проведения микроволновой экстракции на 40 проб [106].

что приводит к получению более воспроизводимых результатов. Аппаратура для МВЭ постоянно совершенствуется, и, помимо микроволновых систем закрытого типа, разработаны системы, позволяющие проводить вакуумную МВЭ, микроволновую экстракцию с азотной защитой, а также ультразвуковую и динамическую МВЭ [94, 100]. С конструктивными особенностями микроволновых систем разных типов можно ознакомиться в обзорах [90, 91, 94, 97, 105, 106, 108, 109].

Экспериментальные параметры, влияющие на МВЭ, подробно обсуждены в обзорах [89–91, 99, 100, 107–109]. К основным параметрам, влияющим на полноту извлечения органических соединений методом МВЭ, относятся: природа растворителя-экстрагента и его объем, температура, мощность и время воздействия микроволнового излучения, природа матрицы.

При выборе растворителя необходимо учитывать не только растворимость в нем целевых аналитов, но и его диэлектрические характеристики, определяющие способность растворителя поглощать микроволновую энергию и преобразовывать ее в тепло. Быстро и сильно разогреваются такие растворители, как метанол, этанол, ацетонитрил, этилацетат, ацетон, а также их смеси с водой (добавки в экстрагент на уровне 10–15%). Углеводородные растворители с низкой диэлектрической проницаемостью (гексан, толуол и др.) используют в смеси с более полярными растворителями, например с ацетоном. В качестве альтернативы классическим растворителям в последние годы возрос интерес к использованию в МВЭ поверхностно-активных веществ и ионных жид-

костей [100, 103]. Выбор объема растворителя зависит от типа и размера образца: объем растворителя должен быть таким, чтобы весь образец был в него погружен. В среднем объем растворителя в МВЭ варьирует от 5 до 20 мл, что значительно меньше, чем в других методах жидкостной экстракции из твердых матриц.

Важным параметром, который необходимо учитывать при выборе условий МВЭ, является содержание воды в образце, которое необходимо контролировать для получения воспроизводимых результатов. Выбор мощности, температуры и соответствующего времени облучения зависит от типа используемого образца и растворителя, а также от количества проб, обрабатываемых за один цикл экстракции в микроволновых системах закрытого типа. В большинстве случаев с повышением температуры (до определенного значения) степень выделения аналитов возрастает за счет увеличения диффузии растворителя во внутренние части матрицы и усиления десорбции компонентов из активных центров матрицы. Однако слишком высокая температура может привести к потере летучих соединений и разложению некоторых соединений. Как уже упоминалось выше, экстракция с применением микроволнового поля позволяет достичь высоких степеней извлечения за короткое время (15–30 мин), при этом расход растворителей значительно сокращается. Выигрыш во времени достигается за счет увеличения температуры кипения растворителя, высокого давления и специфического воздействия МВ-излучения на раствор, а также постоянного перемешивания. Более точный контроль над параметрами реакции (температура, время) позволяет получать более воспроизводимые результаты.

Микроволновая экстракция зарекомендовала себя как один из экологически чистых методов пробоподготовки твердых образцов, в том числе и в варианте онлайн-сочетания методов

пробоподготовки и последующего определения (рис. 4). В обзорах [89–91, 96] приведены ссылки на ранние работы по применению МВЭ для экстракции ПАУ, полихлорированных бифенилов и фенолов из почв и донных отложений. В 1997 г. Агентство по охране окружающей среды (США) одобрило и утвердило стандартный метод 3546 “Микроволновая экстракция” для МВЭ из почв, глин, осадков, илов и других твердых образцов среднелетучих органических соединений, таких как фосфорорганические и хлорорганические пестициды, хлорированные и феноксикислотные гербициды, замещенные фенолы [96]. Метод 3546 – относительно простой и универсальный способ пробоподготовки различных твердых образцов, обеспечивающий одновременное извлечение более 100 целевых аналитов, принадлежащих к разным классам. Валидация метода подтвердила, что степени извлечения соединений совпадают со степенями извлечения в аппарате Сокслета, при этом расходуется меньше растворителей (50–75 мл вместо 500–600 мл), а сама пробоподготовка занимает гораздо меньше времени (минуты, а не часы или дни) [96].

В последние 20 лет МВЭ все чаще используют для выделения органических соединений из объектов окружающей среды [27, 35, 36, 40, 99, 102, 103, 106], пищевых продуктов [41, 42, 45, 47, 101–103, 109], растений [100, 101, 104, 105, 108] и биологических объектов [98]. Расширился и круг выделяемых соединений. В информативных таблицах, приведенных в перечисленных выше обзорах, можно найти сведения об условиях МВЭ (растворитель и его объем, температура, мощность, продолжительность экстракции) различных органических соединений: антибиотиков, ветеринарных лекарств и других фармацевтических препаратов [98, 99, 101–103, 106, 109], гормонов [101, 103, 106], каротиноидов [42], пестицидов [40, 41, 102, 103, 109], фталатов [39, 102], антипиренов [99, 102], поверхностно-активных

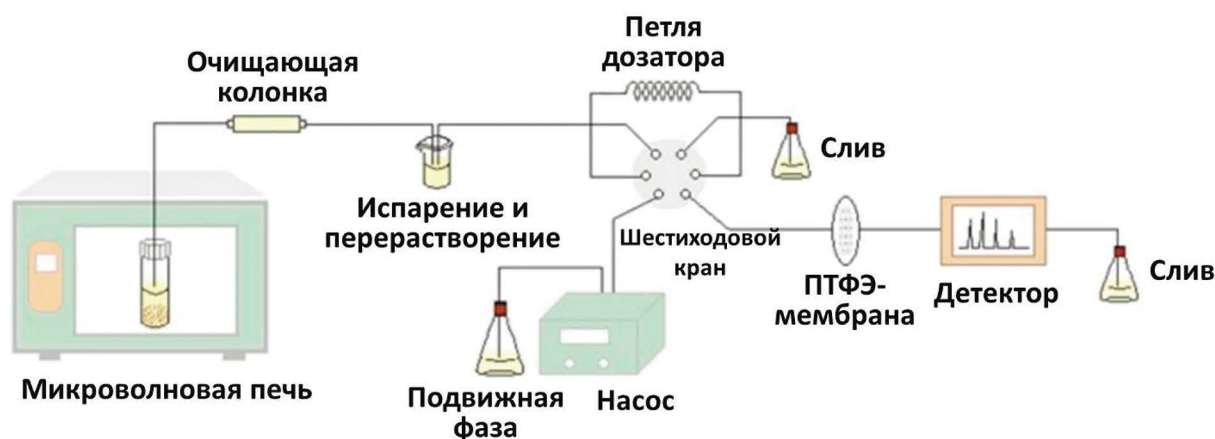


Рис. 4. Установка для проведения микроволновой экстракции в режиме онлайн с последующим определением [103].

веществ [99, 102], средств личной гигиены [55, 99, 102, 106], биологически активных соединений [48, 49, 53, 54, 100, 101, 104, 105, 108].

Авторы выражают благодарность Междисциплинарной научно-образовательной школе Московского университета “Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды”.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках госзадания, тема № АААА-А21-121011990021-7.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Picó Y.* Chromatography-mass spectrometry: Recent evolution and current trends in environmental science // *Curr. Opin. Environ. Sci. Health.* 2020. V. 18. P. 47 <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2020.07.002>
2. *Lopez-Ruiz R., Romero-Gonzalez R., Frenich A.G.* Ultrahigh-pressure liquid chromatography-mass spectrometry: an overview of the last decade // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 118. P. 170.
3. *Rathod R.H., Chaudhari S.R., Patil A.S., Shirkhedkar A.A.* Ultra-high performance liquid chromatography-MS/MS (UHPLC-MS/MS) in practice: analysis of drugs and pharmaceutical formulations // *Futur. J. Pharm. Sci.* 2019. V. 5. P. 2. <https://doi.org/10.1186/s43094-019-0007-8>
4. *Kanu A.B.* Recent developments in sample preparation techniques combined with high-performance liquid chromatography: A critical review // *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1654. Article 462444.
5. *Gu Y., Peach J.T., Warth B.* Sample preparation strategies for mass spectrometry analysis in human exposure research: Current status and future perspectives // *Trends Anal. Chem.* 2023. V. 166. Article 117151. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117151>
6. *Chen Y., Guo Z., Wang X., Qiu C.* Sample preparation // *J. Chromatogr. A.* 2008. V. 1184. P. 191. doi:10.1016/j.chroma.2007.10.026
7. *Câmara J.S., Perestrelo R., Berenguer C.V., Andrade C.F.P., Gomes T.M., Olayanju B., et al.* Green extraction techniques as advanced sample preparation approaches in biological, food, and environmental matrices: A review // *Molecules.* 2022. V. 27. Article 2953. <https://doi.org/10.3390/molecules27092953>
8. *Picot-Allain C., Mahomoodally M. F., Ak G., Zengin G.* Conventional versus green extraction techniques — a comparative perspective // *Curr. Opin. Food Sci.* 2021. V. 40. P. 144. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.02.009>
9. *Kailasa S.K., Koduru J.R., Park T.J., Singhal R.K., Wu H.-F.* Applications of single-drop microextraction in analytical chemistry: A review // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2021. V. 29. Article e00113.
10. *Дмитриенко С.Г., Аняри В.В., Толмачева В.В., Горбунова М.В.* Жидкостная экстракция органических соединений в каплю экстрагента. Обзор обзоров // *Журн. аналит. химии.* 2021. Т. 76. С. 675. (*Dmitrienko S.G., Apyari V.V., Tolmacheva V.V., Gorbunova M.V.* Liquid–liquid extraction of organic compounds into a single drop of the extractant: Overview of reviews // *J. Anal. Chem.* 2021. V. 76. P. 907.)
11. *Gjelstad A.* Three-phase hollow fiber liquid-phase microextraction and parallel artificial liquid membrane extraction // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 113. P. 25.
12. *Дмитриенко С.Г., Аняри В.В., Толмачева В.В., Горбунова М.В.* Дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция органических соединений. Обзор обзоров // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. № 10. С. 867. (*Dmitrienko S.G., Apyari V.V., Tolmacheva V.V., Gorbunova M.V.* Dispersive liquid–liquid microextraction of organic compounds: An overview of reviews // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. № 10. P. 1237.)
13. *Sajid M.* Dispersive liquid–liquid microextraction: Evolution in design, application areas, and green aspects // *Trends Anal. Chem.* 2022. V. 152. Article 116636
14. *Дмитриенко С.Г., Аняри В.В., Горбунова М.В., Толмачева В.В., Золотов Ю.А.* Гомогенная жидкостная микроэкстракция органических соединений // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. С. 963. (*Dmitrienko S.G., Apyari V.V., Gorbunova M.V., Tolmacheva V.V., Zolotov Yu. A.* Homogeneous liquid–liquid microextraction of organic compounds // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. № 11. P. 1371.)
15. *Ramezani A.M., Ahmadi R., Yamini Y.* Homogeneous liquid–liquid microextraction based on deep eutectic solvents // *Trends Anal. Chem.* 2022. V. 149. Article 116566.
16. *Turoňová D., Kujovská Krčmová L., Švec F.* Application of microextraction in pipette tips in clinical and forensic toxicology // *Trends Anal. Chem.* 2021. V. 143. Article 116404.
17. *Carasek E., Mores L., Huelsmann R.D.* Disposable pipette extraction: A critical review of concepts, applications, and directions // *Anal. Chim. Acta.* 2022. V. 1192. Article 339383.
18. *Jalili V., Barkhordari A., Ghiasvand A.* A comprehensive look at solid-phase microextraction technique: A review of reviews // *Microchem. J.* 2020. V. 152. Article 104319.
19. *Nolvachai Y., Amaral M.S. S., Herron R., Marriott P.J.* Solid phase microextraction for quantitative analysis — Expectations beyond design? // *Green Anal. Chem.* 2023. V. 4. Article 100048.
20. *David F., Ochiai N., Sandra P.* Two decades of stir bar sorptive extraction: A retrospective and future outlook // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 112. P. 102.
21. *Hasan C.K., Ghiasvand A., Lewis T.W., Nesterenko P.N., Paull B.* Recent advances in stir-bar sorptive extraction: Coatings, technical improvements, and applications // *Anal. Chim. Acta.* 2020. V. 1139. P. 222.

22. Yang L., Said R., Abdel-Rehim M. Sorbent, device, matrix and application in microextraction by packed sorbent (MEPS): A review // *J. Chromatogr. B*. 2017. V. 1043. P. 33.
23. Pereira J.A. M., Gonçalves J., Porto-Figueira P., Figueira J.A., Alves V., Perestrelo R., Medina S., Câmara J.S. Current trends on microextraction by packed sorbent – Fundamentals, application fields, innovative improvements and future applications // *Analyst*. 2019. V. 144. P. 5048.
24. Capriotti A.L., Cavaliere C., La Barbera G., Montone C.M., Piovesana S., Laganà A. Recent applications of magnetic solid-phase extraction for sample preparation // *Chromatographia*. 2019. V. 82. P. 1251.
25. Ghorbani M., Aghamohammadhassan M., Chamsaz M., Akhlaghi H., Pedramrad T. Dispersive solid phase microextraction // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 118. P. 793.
26. Дмитриенко С.Г., Аняри В.В., Толмачева В.В., Горбунова М.В., Фурлетов А.А. Дисперсионная и магнитная твердофазная экстракция органических соединений. Обзор обзоров // *Журн. аналит. химии*. 2024. Т. 79. № 2. (Dmitrienko S.G., Apyari V.V., Tolmacheva V.V., Gorbunova M.V., Furletov A.A. Dispersive and magnetic solid-phase extraction of organic compounds: Review of reviews // *J. Anal. Chem.* 2024. V. 79. № 2. P. 105–118. <https://doi.org/10.1134/S1061934824020060>)
27. Zuloaga O., Navarro P., Bizkarguenaga E., Iparraguirre A., Vallejo A., Olivares M., Prieto A. Overview of extraction, clean-up and detection techniques for the determination of organic pollutants in sewage sludge: A review // *Anal. Chim. Acta*. 2012. V. 736. P. 7. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.05.016>
28. Tadeo J., Sánchez-Brunete C., Albero B., García-Valcárcel A., Pérez R. Analysis of emerging organic contaminants in environmental solid samples // *Cent. Eur. J. Chem.* 2012. V. 10. P. 480.
29. Martín-Pozo L., de Alarcón-Gómez B., Rodríguez-Gómez R., García-Córcoles M.T., Çipa M., Zafra-Gómez A. Analytical methods for the determination of emerging contaminants in sewage sludge samples. A review // *Talanta*. 2019. V. 192. P. 508. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.09.056>
30. Grześkowiak T., Czarzyńska-Goślińska B., Zgoła-Grześkowiak A. Current approaches in sample preparation for trace analysis of selected endocrine-disrupting compounds: Focus on polychlorinated biphenyls, alkylphenols, and parabens // *Trends Anal. Chem.* 2016. V. 75. P. 209. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.07.005>
31. Kim M., Li L.Y., Gorgy T., Grace J. R. Review of contamination of sewage sludge and amended soils by polybrominated diphenyl ethers based on meta-analysis // *Environ. Pollut.* 2017. V. 220. P. 753. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.053>
32. Salgueiro-González N., Castiglioni S., Zuccato E., Turnes-Carou I., López-Mahía P., Muniategui-Lorenzo S. Recent advances in analytical methods for the determination of 4-alkylphenols and bisphenol A in solid environmental matrices: A critical review // *Anal. Chim. Acta*. 2018. V. 1024. P. 39. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.02>
33. Wang C., Wang Y., Herath H.M. S.K. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in biochar – Their formation, occurrence and analysis: A review // *Org. Geochem.* 2017. V. 114. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2017.09>
34. Pérez-Lemus N., López-Serna R., Pérez-Elvira S.I., Barrado E. Analytical methodologies for the determination of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in sewage sludge: A critical review // *Anal. Chim. Acta*. 2019. V. 1083. P. 19. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.06.044>
35. Ling W., Rui S., Yongxin L., Sun C. Sample preparation and analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2019. Article e00074. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2019>
36. Galmiche M., Delhomme O., François Y.-N., Millet M. Environmental analysis of polar and non-polar polycyclic aromatic compounds in airborne particulate matter, settled dust and soot: Part I: Sampling and sample preparation // *Trends Anal. Chem.* 2021. V. 134. Article 116099. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116099>
37. Song N., Tian Y., Luo Z., Dai J., Liu Y., Duan Y. Advances in pretreatment and analysis methods of aromatic hydrocarbons in soil // *RSC Adv.* 2022. V. 12. P. 6099. <https://doi.org/10.1039/D1RA08633B>
38. Chen X., Wu X., Luan T., Jiang R., Ouyang G. Sample preparation and instrumental methods for illicit drugs in environmental and biological samples: A review // *J. Chromatogr. A*. 2021. V. 1640. Article 461961. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.461961>
39. Hidalgo-Serrano M., Borrull F., Marcé R.M., Pocurull E. Phthalate esters in marine ecosystems: Analytical methods, occurrence and distribution // *Trends Anal. Chem.* 2022. V. 151. Article 116598. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116598>
40. Brinco J., Guedes P., Gomes da Silva M., Mateus E.P., Ribeiro A.B. Analysis of pesticide residues in soil: A review and comparison of methodologies // *Microchem. J.* 2023. V. 195. Article 109465. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2023>
41. Lambropoulou D.A., Albanis T.A. Methods of sample preparation for determination of pesticide residues in food matrices by chromatography-mass spectrometry-based techniques: A review // *Anal. Bioanal. Chem.* 2007. V. 389. P. 1663. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1348-2>
42. Saini R.K., Keum Y.-S. Carotenoid extraction methods: A review of recent developments // *Food Chem.* 2018. V. 240. P. 90. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.099>
43. Madej K., Kalenik T.K., Piekoszewski W. Sample preparation and determination of pesticides in fat-containing foods // *Food Chem.* 2018. V. 269. P. 527. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.007>

44. *Hewavitharana G.G., Perera D.N., Navaratne S.B., Wickramasinghe I.* Extraction methods of fat from food samples and preparation of fatty acid methyl esters for gas chromatography: A review // *Arab. J. Chem.* 2020. V. 13. P. 6865.
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.06.039>
45. *Watanabe E.* Review of sample preparation methods for chromatographic analysis of neonicotinoids in agricultural and environmental matrices: From classical to state-of-the-art methods // *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1643. Article 462042.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462042>
46. *Castro Ó., Borrull F., Pocurull E.* High production volume chemicals in seafood: A review of analytical methods, occurrence and population risk // *Trends Anal. Chem.* 2022. V. 157. Article 116743
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116743>
47. *Mandal S., Poi R., Hazra D.K., Ansary I., Bhattacharyya S., Karmakar R.* Review of extraction and detection techniques for the analysis of pesticide residues in fruits to evaluate food safety and make legislative decisions: Challenges and anticipations // *J. Chromatogr. B.* 2023. V. 1215. Article 123587.
48. *Lefebvre T., Destandau E., Lesellier E.* Selective extraction of bioactive compounds from plants using recent extraction techniques: A Review // *J. Chromatogr. A.* 2020. Article 461770.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461770>
49. *Mir-Cerda A., Núñez O., Granados M., Sentellas S., Saurina J.* An overview of the extraction and characterization of bioactive phenolic compounds from agri-food waste within the framework of circular bioeconomy // *Trends Anal. Chem.* 2023. V. 161. Article 116994
50. *Parrilla Vázquez P., Ferrer C., Martínez Bueno M.J., Fernández-Alba A.R.* Pesticide residues in spices and herbs: sample preparation methods and determination by chromatographic techniques // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 115. P. 13.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.03.022>
51. *Hamed M., Abdallah I.A., Bedair A., Mansour F.R.* Sample preparation methods for determination of quercetin and quercetin glycosides in diverse matrices // *Microchem. J.* 2023. V. 194. Article 109233.
52. *Бессонова Е.А., Карпицкий Д.А., Карцова Л.А.* Современные подходы к извлечению и концентрированию биологически активных веществ из растительных объектов с применением методов микроэкстракции для их хромато-масс-спектрометрического определения // *Журн. аналит. химии.* 2023. Т. 78. С. 883.
53. *Bitwell C., Indra S.S., Luke C., Kakoma M.K.* A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants // *Scientific African.* 2023. V. 19. Article e01585
54. *Milevskaya V.V., Prasad S., Temerdashev Z.A.* Extraction and chromatographic determination of phenolic compounds from medicinal herbs in the Lamiaceae and Hypericaceae families: A review // *Microchem. J.* 2019. V. 145. P. 1036.
55. *Cabaleiro N., de la Calle I., Bendicho C., Lavilla I.* Current trends in liquid–liquid and solid–liquid extraction for cosmetic analysis: A review // *Anal. Methods.* 2013. V. 5. P. 323.
<https://doi.org/10.1039/c2ay25830g>
56. *Piao C., Chen L., Wang Y.* A review of the extraction and chromatographic determination methods for the analysis of parabens // *J. Chromatogr. B.* 2014. V. 969. P. 139.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.08.015>
57. *Abedi G., Talebpour Z., Jamechenarboo F.* The survey of analytical methods for sample preparation and analysis of fragrances in cosmetics and personal care products // *Trends Anal. Chem.* 2018. V. 102. P. 41.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.01.006>
58. *Celeiro M., Garcia-Jares C., Llompart M., Lores M.* Recent advances in sample preparation for cosmetics and personal care products analysis // *Molecules.* 2021. V. 26. P. 4900.
<https://doi.org/10.3390/molecules26164900>
59. *Chanoti S., Liadakis G., Tzia C.* Solid-liquid extraction / *Food Engineering Handbook* / Eds. Varzakas, T., Tzia, C. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2014. P. 253.
60. *Naviglio D., Scarano P., Ciaravolo M., Gallo M.* Rapid solid-liquid dynamic extraction (RSLDE): A powerful and greener alternative to the latest solid-liquid extraction techniques // *Foods.* 2019. V. 8. P. 245.
<https://doi.org/10.3390/foods8070245>
61. *Chemat F., Vian M.A., Ravi H.K., Khadhraoui B., Hilali S., Perino S., Tixier A.S.F.* Review of alternative solvents for green extraction of food and natural products: Panorama, principles, applications and prospects // *Molecules.* 2019. V. 24. P. 3007.
<https://doi.org/10.3390/molecules24163007>
62. *Didion Y.P., Tjalsma T.G., Su Z., Malankowska M., Pinelo M.* What is next? The greener future of solid liquid extraction of biobased compounds: Novel techniques and solvents overpower traditional ones // *Sep. Purif. Technol.* 2023. V. 320. Article 124147.
<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2023.124147>
63. *Kaoui S., Basaid K., Chebli B.* Deep eutectic solvents as sustainable extraction media for plants and food samples: A review // *Sustain. Chem. Pharm.* 2023. V. 31. Article 100937.
<https://doi.org/10.1016/j.scp.2022.100937>
64. *Vakh C., Koronkiewicz S.* Surfactants application in sample preparation techniques: Insights, trends, and perspectives // *Trends Anal. Chem.* 2023. V. 165. Article 117143.
65. *Luque de Castro M.D., García-Ayuso L.* Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future // *Anal. Chim. Acta.* 1998. V. 369. P. 1.
[https://doi.org/10.1016/s0003-2670\(98\)00233-5](https://doi.org/10.1016/s0003-2670(98)00233-5)
66. *Luque-García J.L., Luque de Castro M.D.* Focused microwave-assisted Soxhlet extraction: Devices and applications // *Talanta.* 2004. V. 64. P. 571.
67. *Jensen W.B.* The origin of the Soxhlet extractor // *J. Chem. Educ.* 2007. V. 84. P. 1913.
<https://doi.org/10.1021/ed084p1913>

68. *De Castro M.L., Priego-Capote F.* Soxhlet extraction: Past and present panacea // *J. Chromatogr. A.* 2010. V. 1217. P. 2383.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.027>
69. *Zygler A., Słomińska M., Namieśnik J.* Soxhlet extraction and new developments such as soxtex // *Compr. Sampl. Sample Prep.* 2012. V. 2. P. 65.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381373-2.00037-5>
70. *Luque-García J., Luque de Castro M.* Ultrasound: A powerful tool for leaching // *Trends Anal. Chem.* 2003. V. 22. P. 41.
[https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(03\)00102-X](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(03)00102-X)
71. *Santos H., Capelo J.* Trends in ultrasonic-based equipment for analytical sample treatment // *Talanta.* 2007. V. 73. P. 795.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.05.039>
72. *Tadeo J.L., Sánchez-Brunete C., Albero B., García-Valcárcel A.I.* Application of ultrasound-assisted extraction to the determination of contaminants in food and soil samples // *J. Chromatogr. A.* 2010. V. 1217. P. 2415.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.066>
73. *Bendicho C., De La Calle I., Pena F., Costas M., Caba-leiro N., Lavilla I.* Ultrasound assisted pretreatment of solid samples in the context of green analytical chemistry // *Trends Anal. Chem.* 2012. V. 31. P. 50.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.06.018>
74. *Seidi S., Yamini Y.* Analytical sonochemistry; developments, applications, and hyphenations of ultrasound in sample preparation and analytical techniques // *Cent. Eur. J. Chem.* 2012. V. 10. P. 938.
<https://doi.org/10.2478/s11532-011-0160-1>
75. *Picó Y.* Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples // *Trends Anal. Chem.* 2013. V. 43. P. 84.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.12.005>
76. *Tiwari B.K.* Ultrasound: A clean, green extraction technology // *Trends Anal. Chem.* 2015. V. 71. P. 100.
77. *Albero B., Sánchez-Brunete C., García-Valcárcel A.I., Pérez R.A., Tadeo J.L.* Ultrasound-assisted extraction of emerging contaminants from environmental samples // *Trends Anal. Chem.* 2015. V. 71. P. 110.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.03.015>
78. *Chemat F., Rombaut N., Sicaire A.G., Meullemiestre A., Fabiano-Tixier A.S., Abert-Vian M.* Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review // *Ultrason. Sonochem.* 2017. V. 34. P. 540.
79. *Vinatoru M., Mason T.J., Calinescu I.* Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials // *Trends Anal. Chem.* 2017. V. 97. P. 159.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.002>
80. *Albero B., Tadeo J.L., Pérez R.A.* Ultrasound-assisted extraction of organic contaminants // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 118. P. 739.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.07.007>
81. *Ojha S., Aznar R., O'Donnell C., Tiwari B. K.* Ultrasound technology for the extraction of biologically active molecules from plant, animal and marine sources // *Trends Anal. Chem.* 2019. 115663.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115663>
82. *Kumar K., Srivastav S., Sharanagat V. S.* Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. // *Ultrason. Sonochem.* 2021. V. 70. Article 105325.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325>
83. *Jinadasa B.K. K.K., Moreda-Piñeiro A., Fowler S.W.* Ultrasound-assisted extraction in analytical applications for fish and aquatic living resources, A review // *Food Rev. Int.* 2021. V. 39. P. 1.
<https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1967378>
84. *Das P., Nayak P.K., Kesavan R.* Ultrasound assisted extraction of food colorants: Principle, mechanism, extraction technique and applications: A review on recent progress // *Food Chem. Adv.* 2022. V. 1. Article 100144.
85. *Pérez R.A., Albero B.* Ultrasound-assisted extraction methods for the determination of organic contaminants in solid and liquid samples // *Trends Anal. Chem.* 2023. V. 166. Article 117204.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117204>
86. *Shen L., Pang S., Zhong M., Sun Y., Qayum A., Liu Y., et al.* A comprehensive review of ultrasonic assisted extraction (UAE) for bioactive components: Principles, advantages, equipment, and combined technologies // *Ultrason. Sonochem.* 2023. V. 101. Article 106646.
87. *Smith F.E., Arsenault E.A.* Microwave-assisted sample preparation in analytical chemistry // *Talanta.* 1996. V. 43. P. 1207.
[https://doi.org/10.1016/0039-9140\(96\)01882-6](https://doi.org/10.1016/0039-9140(96)01882-6)
88. *Ganzler K., Salgó A., Valkó K.* Microwave extraction. A novel sample preparation method for chromatography // *J. Chromatogr. A.* 1986. V. 371. P. 299.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)94714-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)94714-4)
89. *Letellier M., Budzinski H.* Microwave assisted extraction of organic compounds // *Analisis.* 1999. V. 27. P. 259.
<https://doi.org/10.1051/analisis:1999116>
90. *Camel V.* Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples // *Trends Anal. Chem.* 2000. V. 19. P. 229.
[https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(99\)00185-5](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(99)00185-5)
91. *Eskilsson C.S., Björklund E.* Analytical-scale microwave-assisted extraction // *J. Chromatogr. A.* 2000. V. 902. P. 229.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00921-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00921-3)
92. *Camel V.* Recent extraction techniques for solid matrices—supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls // *Analyst.* 2001. V. 126. P. 1182.
<https://doi.org/10.1039/b008243k>
93. *Кубракова И.В.* Микроволновое излучение в аналитической химии: возможности и перспективы использования // *Успехи химии.* 2002. Т. 71. № 4. С. 327.
<https://doi.org/10.1070/RC2002v071n04ABEH000699>
(*Kubrakova I.V.* Microwave radiation in analytical

- chemistry: The scope and prospects for application // Russ. Chem. Rev. 2002. V. 71. № 4. P. 283.
<https://doi.org/10.1070/RC2002v071n04ABEH000699>
94. *Luque-Garcia J.L., Luque de Castro M.D.* Where is microwave-based analytical equipment for solid sample pretreatment going? // Trends Anal. Chem. 2003. V. 22. P. 90.
[https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(03\)00202-4](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(03)00202-4)
 95. *Srogi K.* A review: Application of microwave techniques for environmental analytical chemistry // Anal. Lett. 2006. V. 39. P. 1261.
<https://doi.org/10.1080/00032710600666289>
 96. *Bélanger J.M.R., Paré J.R.J.* Applications of microwave-assisted processes (MAP™) to environmental analysis // Anal. Bioanal. Chem. 2006. V. 386. P. 1049.
 97. *Chen L., Song D., Tian Y., Ding L., Yu A., Zhang H.* Application of on-line microwave sample-preparation techniques // Trends Anal. Chem. 2008. V. 27. P. 151.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.01.003>
 98. *Madej K.* Microwave-assisted and cloud-point extraction in determination of drugs and other bioactive compounds // Trends Anal. Chem. 2009. V. 28. P. 436.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.02.002>
 99. *Sanchez-Prado L., Garcia-Jares C., Llompert M.* Microwave-assisted extraction: Application to the determination of emerging pollutants in solid samples // J. Chromatogr. A. 2010. V. 1217. P. 2390.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.080>
 100. *Chan C.H., Yusoff R., Ngoh G.C., Kung F.W. L.* Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants // J. Chromatogr. A. 2011. V. 1218. P. 6213.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.07.040>
 101. *Tatke P., Jaiswal Y.* An overview of microwave assisted extraction and its applications in herbal drug research // Res. J. Med. Plant. 2011. V. 5. P. 21.
 102. *Sanchez-Prado L., Garcia-Jares C., Dagnac T., Llompert M.* Microwave-assisted extraction of emerging pollutants in environmental and biological samples before chromatographic determination // Trends Anal. Chem. 2015. V. 71. P. 119.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.03.014>
 103. *Wang H., Ding J., Ren N.* Recent advances in microwave-assisted extraction of trace organic pollutants from food and environmental samples // Trends Anal. Chem. 2016. V. 75. P. 197.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.05.005>
 104. *Mandal V., Tandey R.* A critical analysis of publication trends from 2005–2015 in microwave assisted extraction of botanicals: How far we have come and the road ahead // Trends Anal. Chem. 2016. V. 82. P. 100.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.05.020>
 105. *Kala H.K., Mehta R., Sen K.K., Tandey R., Mandal V.* Critical analysis of research trends and issues in microwave assisted extraction of phenolics: Have we really done enough // Trends Anal. Chem. 2016. V. 85. P. 140.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.09.007>
 106. *Llompert M., Celeiro M., Dagnac T.* Microwave-assisted extraction of pharmaceuticals, personal care products and industrial contaminants in the environment // Trends Anal. Chem. 2019. V. 116. P. 136.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.029>
 107. *Bagade S.B., Patil M.* Recent advances in microwave assisted extraction of bioactive compounds from complex herbal samples: A review // Crit. Rev. Anal. Chem. 2021. V. 51. P. 138.
<https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1686966>
 108. *López-Salazar H., Camacho-Díaz B.H., Ocampo M.L.A., Jiménez-Aparicio A.R.* Microwave-assisted extraction of functional compounds from plants: A Review // BioResources. 2023. V. 18. P. 6614.
<https://doi.org/10.15376/biores.18.3>
 109. *Ferrara D., Beccaria M., Cordero C.E., Purcaro G.* Microwave-assisted extraction in closed vessel in food analysis // J. Sep. Sci. 2023. V. 46. Article e2300390.
<https://doi.org/10.1002/jssc.202300390>

REVIEWS

METHODS FOR THE EXTRACTION OF ORGANIC COMPOUNDS FROM SOLID SAMPLES. 1. LIQUID EXTRACTION. REVIEW OF REVIEWS

**S. G. Dmitrienko^a, V. V. Apyari^a, V. V. Tolmacheva^{a,*}, M. V. Gorbunova^a,
A. A. Furlotov^a, Yu. A. Zolotov^{a,b}**

^a *Lomonosov Moscow State University, Department of Chemistry, 119991, Moscow, Russia*

^b *N.S. Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, 119991, Moscow, Russia*

*E-mail: nikatolm@mail.ru

Abstract. The first part of the review provides general information about the liquid extraction of organic compounds from solid samples and discusses various methods of its implementation: extraction in a Soxhlet apparatus, ultrasonic extraction, extraction in a microwave field. Based on the analysis of the review papers, information on the features of sample preparation using these methods is systematized, experimental parameters affecting the extraction efficiency are considered, examples of the use of these methods for the isolation of organic compounds in the analysis of solid environmental objects, food and plants are given.

Keywords: liquid extraction from solid matrices, extraction in a Soxhlet apparatus, ultrasonic extraction, extraction in a microwave field, organic compounds.

УДК 546.23:543.544:543.423.1

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИМЕСНОГО СОСТАВА ВЫСОКОЧИСТОЙ СЕРЫ

© 2024 г. М. Ф. Чурбанов^a, И. В. Скрипачев^a, А. Ю. Созин^{a,*}, И. И. Евдокимов^a

^aИнститут химии высокочистых веществ им. Г.Г. Девярых Российской академии наук,
ул. Тропинина, 49, Нижний Новгород, ГСП-75, 603950, Россия

*E-mail: Sozin@ihps-nnov.ru

Поступила в редакцию 25.10.2023 г.

После доработки 15.11.2023 г.

Принята к публикации 22.11.2023 г.

Обзор посвящен рассмотрению научных достижений в области определения в высокочистой сере примесей элементов, молекулярных соединений и гетерофазных включений. Охарактеризованы известные к настоящему времени способы их определения методами атомно-эмиссионной спектроскопии, масс-спектрометрии, колориметрии, гравиметрии, титриметрии, турбидиметрии, кондуктометрии, газовой хроматографии, ИК-спектроскопии, хромато-масс-спектрометрии, лазерной ультрамикроскопии.

Ключевые слова: высокочистая сера, примеси, предел обнаружения, методы анализа.

DOI: 10.31857/S0044450224080029, EDN: tkapgs

Высокочистая сера востребована в различных областях науки и техники. Ее используют для получения халькогенидных стекол, имеющих высокую прозрачность в среднем ИК-диапазоне [1–3], в микроэлектронике для получения сульфидов металлов, необходимых для изготовления детекторов излучений оптического и рентгеновского диапазонов, люминесцентных экранов [2, 4]. Получаемый на основе высокочистой серы сульфид цинка является одним из основных материалов для изготовления проходных элементов лазеров, работающих в ближнем и среднем ИК-диапазонах, линз, зеркал, защитных окон и элементов для авиационных и космических аппаратов, устройств самонаведения [5]. Высокочистая сера используется для синтеза сульфидов кадмия и галлия, применяемых для изготовления оптических приборов и люминофоров [6]. Перспективным научным направлением в области оптоэлектроники является использование полупроводниковых кристаллов ZnS на основе изотопно обогащенной серы [7, 8].

Существенное влияние на функциональные свойства материалов, получаемых из высокочистой серы, оказывают присутствующие в ней примеси. Они могут поступать в конечные изделия и ухудшать их качества. Такими примесями являются сульфиды, сульфаты, оксиды, карбо-

наты различных элементов и другие соединения, а также вещества в молекулярной форме и гетерофазные включения [1, 2, 9–11].

Содержание многих примесей нормируется и определяется областью применения высокочистой серы. Например, концентрации меди и никеля в цинк-сульфидных люминофорах не должны превышать 10^{-6} – 10^{-5} мас. % [12]. Примеси водорода, кислорода, углерода, поступающие из серы, ухудшают прозрачность халькогенидных стекол в среднем ИК-диапазоне, начиная с 10^{-8} – 10^{-7} мас. % [2, 13–15]. Примеси в форме гетерофазных включений субмикронного размера существенно влияют на энергетический порог объемного разрушения халькогенидных стекол под действием импульсного лазерного излучения [16].

Развитие волоконной, силовой оптики, физики полупроводников требует повышения степени чистоты серы. В настоящее время наибольшие требования к содержанию в ней примесей предъявляет волоконная инфракрасная оптика на основе сульфидно-мышьяковых стекол системы As–S [17]. Многомодовые волоконные световоды из этих стекол имеют наименьшие оптические потери в среднем ИК-диапазоне на уровне 12–14 дБ/км [18]. Для их достижения в особо чистой сере, используемой для синтеза данных стекол, должно быть пони-

жено интегральное содержание примесей металлов и кремния до уровня, не превышающего 10^{-5} мас. %. [19].

Концентрации отдельных примесей в полученных к настоящему времени наиболее чистых образцах серы составляют 10^{-8} – 10^{-4} ат. %, а суммарное их содержание находится на уровне $(1-3) \times 10^{-4}$ ат. % [20]. Такая степень чистоты не всегда достаточна для удовлетворения требований передовых и перспективных научных разработок. Кроме того, в последнее время значительное место в технологии получения высокочистой серы стали занимать надежная идентификация примесей и их определение на низком уровне концентрации. Это связано с возрастающей тенденцией использования для ее получения нетрадиционных и вторичных источников [1]. Примесный состав такой серы может существенно отличаться от характерного для полученной по устоявшимся технологиям и нуждается в изучении. В связи с этим актуальным научным направлением является развитие методов анализа серы, позволяющих расширить информацию о примесях в ней и определять их с более низкими пределами обнаружения.

Описаны [1, 2, 10, 21] методы и возможности определения с их помощью в сере примесей элементов, молекулярных соединений и гетерофазных включений. Наибольшее применение для этой цели нашли атомно-эмиссионная спектроскопия, масс-спектрометрия, колориметрия, гравиметрия, титриметрия, турбидиметрия, кондуктометрия, газовая хроматография, ИК-спектроскопия, хромато-масс-спектрометрия, лазерная ультрамикроскопия. Рассмотрение их возможностей и совместное использование для исследования примесей в сере способствует наиболее полной ее характеристике, необходимой для оптимизации технологий ее глубокой очистки.

В данном обзоре рассматриваются известные в настоящее время возможности методов определения в сере примесей элементов, молекулярных соединений и гетерофазных включений.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИМЕСНОГО СОСТАВА СЕРЫ

Примесный состав серы зависит от состава исходного серосодержащего сырья и методов его переработки. Ее получение является многостадийным процессом [22–25]. На каждом технологическом этапе в серу могут попадать компоненты исходного сырья, вещества, используемые в качестве реагентов для ее выделения, и продукты их взаимодействия с материалом аппаратуры и окружающей средой. Совокупность этих факторов определяет примесный состав серы [2].

В промышленности элементарную серу получают из самородных и сульфидных руд, из природных и промышленных газов, содержащих диоксид серы, сероводород и другие ее соединения [9, 22–25]. Из руд серу выделяют методом подземной выплавки. Основными примесями в ней являются сопутствующие элементы-аналоги, мышьяк с концентрацией 10^{-3} – 0.1 мас. %, углерод, кислород, водород в виде соединений с концентрациями до 0.01 – 0.1 мас. %, элементы, входящие в состав пород на месте залегания серы – Ca, Si, Al, Mg, Fe с концентрациями до 10^{-4} – 10^{-2} мас. %. При наземной переработке руд серу извлекают выплавкой в печах или экстракцией, часто после предварительного флотационного обогащения. В качестве экстрагентов обычно используются водные растворы сульфидов, углеводороды и их производные. В качестве флотореагентов применяют керосин, высшие спирты, масла [22, 23]. При обжиге сульфидных руд серу переводят преимущественно в диоксид, окисульфид углерода, сероуглерод. Из этих соединений ее регенерируют до элементарной серы.

В качестве катализаторов процессов выделения серы используют боксит, силикагель, оксиды и сульфиты некоторых металлов [22, 23, 25]. Характерной особенностью такой серы является присутствие в ней значительного количества исходных и конечных продуктов реакций (оксидов серы и углерода, дисульфида и окисульфида углерода, воды, частиц катализатора).

В настоящее время в нашей стране производители особо чистой серы регламентируют в ней содержание примесей согласно ТУ 6-09-2546-77 [21] (табл. 1).

Физико-химические показатели серы различных марок нормируются действующими стандартами [26–28]. Из табл. 1 видно, что в сере нормируется относительно небольшое число примесей. Нет информации о конкретных присутствующих органических веществах, а современные возможности элементного анализа позволяют осуществлять контроль большего числа примесей с концентрациями на 2–3 порядка ниже по сравнению с представленными. В паспортных данных серы также не приводится информация о примесях в ней гетерогенных включений. Данные сведения важны для развития физико-химических основ и технологии получения высокочистой серы.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИМЕСЕЙ ЭЛЕМЕНТОВ

Для элементного анализа серы могут быть использованы многочисленные методы анализа – химические, физические и физико-химические [2, 20, 21, 29–31]. Наиболее часто применяют атомно-эмиссионную спектрометрию с атомизацией в дуговом разряде, фотометрию

Таблица 1. Содержание примесей в особо чистой сере согласно ТУ 6-09-2546-77 [21]

Примеси	Норма (не более), мас. %		
	ос. ч. 16-5	ос. ч. 14-4	ос. ч. 15-3
Se	2×10^{-4}	Не норм.	5×10^{-4}
P	1×10^{-5}	5×10^{-5}	1×10^{-3}
Cl, Br, I (в пересчете на Cl)	2×10^{-5}	5×10^{-5}	1×10^{-4}
Битумы	2×10^{-3}	2×10^{-3}	2×10^{-3}
Al	4×10^{-5}	1×10^{-4}	1×10^{-4}
Fe	2×10^{-5}	3×10^{-5}	1×10^{-4}
Cd, Mo	1×10^{-6}	Не норм.	Не норм.
Co	2×10^{-6}	3×10^{-6}	1×10^{-5}
Ga, In	1×10^{-6}	1×10^{-6}	5×10^{-5}
Mn	1×10^{-6}	5×10^{-6}	1×10^{-4}
Cu, Ag	1×10^{-6}	5×10^{-6}	5×10^{-5}
As	2×10^{-5}	3×10^{-5}	5×10^{-4}
Ni, Pb	2×10^{-6}	1×10^{-5}	1×10^{-4}
Sn	1×10^{-6}	1×10^{-5}	1×10^{-4}
Te	5×10^{-6}	Не норм.	Не норм.

растворов, обычно с экстракционным извлечением аналита, атомно-абсорбционный анализ, реже – рентгенофлуоресцентный анализ, электрохимические и ядерно-физические методы. Известные методики анализа серы характеризуются различной чувствительностью и по-разному адаптированы к анализируемым образцам, отличающимся степенью чистоты. При анализе чистой серы, как правило, используют комбинированные методики, предусматривающие предварительное концентрирование примесей [29, 32]. При химико-аналитическом контроле образцов промышленной серы (сера техническая, сера особой чистоты) задачи элементного анализа состоят, как правило, в определении примесей металлов (Al, Fe, Cd, Co, Ga, Mn, Cu, As, Ni, Sn, Pb, Ag, Te, In, Mo), а также Se, Te, As и P [21, 30].

Суммарное содержание примесей металлов в образцах промышленной серы может варьироваться в широком диапазоне (10^{-5} – 10^{-2} мас. %) в зависимости от марки. Удобным, широкодоступным и надежным методом их определения, а также ряда примесей неметаллов в сере на уровне 10^{-6} мас. % и выше является атомно-эмиссионная спектроскопия с дуговым разрядом (АЭС-ДР). Для анализа технической и особо чистой серы разработаны методики прямого

определения примесей с их предварительным концентрированием. При анализе особо чистой серы концентрирование примесей широкого круга металлов (например, Al, Ga, Fe, Co, Mn, Cu, As, Ni, Cd, Sn, Pb) достигается удалением основы путем ее испарения либо окисления (сжигания), поскольку сера и ее оксиды более летучи, чем оксиды, сульфиды, сульфаты и карбонаты многих металлов. При определении примесей Te, In и Mo матрицу переводят в серную кислоту действием концентрированной азотной кислоты, а серную кислоту впоследствии упаривают [21]. В качестве коллекторов примесей используют смесь SiO_2 и NaCl, а также спектрально-чистый угольный порошок [21, 33, 34]. Остаток после сжигания серы может быть переведен в раствор для последующего спектрального определения примесей [35]. Способ удаления матрицы выбирают, исходя из требований к коэффициенту извлечения конкретных примесей в концентрат. Несомненное достоинство атомно-эмиссионного спектрального анализа – это определение широкого круга примесей из одной аналитической навески при относительно высокой чувствительности. Методики, предусматривающие концентрирование примесей удалением матрицы, могут быть сопряжены с последующим их определением в растворе концентрата широко распространенными в настоящее время атомно-эмиссионным или масс-спектрометрическими методами с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП, МС-ИСП). Так, АЭС-ИСП применена совместно с АЭС-ДР при определении примесей Al, As, Se, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Se, Si, Te, Ti, Zn в образцах серы различной степени чистоты [7]. Концентрирование примесей осуществляли испарением матрицы с дальнейшим переводом концентрата в раствор, после чего их определяли методами АЭС-ДР и АЭС-ИСП. Дополнительно проводили АЭС-ИСП-определение примесей в растворах, полученных автоклавным растворением серы в 68%-ной азотной кислоте. Совместное применение АЭС-ДР и АЭС-ИСП позволило дополнительно проконтролировать правильность результатов определений. Автоклавное растворение серы легко протекает в азотной кислоте азеотропного состава (68–69 мас. %), которую можно получить в высокочистом виде дистилляцией без кипения, в отличие от концентрированной азотной кислоты, применяемой для окисления серы в открытых сосудах.

В работе [36] описано МС-ИСП-определение Li, V, Cr, Co, Ga, Rb, Sr, Cd, Cs, Ba, Pb, U, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Y с пределами обнаружения 9×10^{-10} – 2×10^{-7} мас. %. Этот перечень не включает примеси наиболее распространенных элементов (Al, Ca, Mg, Si, Fe, Na, K, Zn и др.).

При определении примесей As, Se и Te широко используются спектрофотометрические методики. Анализируемую пробу серы переводят в раствор (обычно действием азотной кислоты), определяемые примеси переводят в окрашенные соединения с органическим реагентом, которые затем экстрагируют и определяют методом спектрофотометрии. Достигнутые пределы обнаружения примесей мышьяка и селена лежат в интервале 10^{-6} – 10^{-5} мас. % [32].

В работе [37] приведена методика химико-атомно-абсорбционного определения примесей As, Sb и Se в высокочистой сере. Их извлекали из серы экстракцией и далее определяли в водном растворе или толуоле. Предел обнаружения элементов составил 1×10^{-7} , 2×10^{-7} и 3×10^{-7} мас. % соответственно.

Мышьяк и селен с пределом обнаружения 1×10^{-6} мас.% определяли рентгенофлуоресцентным методом с предварительным концентрированием примесей [38]. Анализируемую серу растворяли в азотной кислоте, раствор упаривали досуха. Образовавшийся осадок, содержащий оксиды мышьяка и селена, наносили на фильтровальную бумагу, которую подвергли анализу.

В ряде работ [29, 31, 32] описано полярографическое определение до 1×10^{-3} мас. % селена, основанное на легком электровосстановлении анионов селенистой кислоты на ртутном капельном электроде.

Фосфор с пределом обнаружения 1×10^{-5} мас. % может быть определен турбидиметрическим методом [21]. Галогены в сере определяли методом светорассеяния [21]. Для этого в колбу с серой последовательно добавляли этиловый спирт и воду. Содержимое доводили до кипения, затем полученный раствор отделяли от нерастворившегося осадка, добавляли в него азотную кислоту и снова кипятили, после чего добавляли нитрат серебра. Концентрацию галогенов определяли по светорассеянию полученного раствора. Применение описанного подхода позволяет контролировать до 2×10^{-5} мас. % галогенов в сере.

Высококчувствительным методом определения примесей в сере высокой чистоты является радиоактивационный анализ, не связанный с предварительным обогащением пробы, что приводит к отсутствию поправки на холостой опыт. Описана [32] методика определения 14 элементов в сере высокой чистоты с пределами обнаружения Mn, Cu, As $(2-5) \times 10^{-8}$ мас. %, Ga, Te, Sb, In, Co $(1-6) \times 10^{-7}$ мас. %, Ag, Hg, Cr $(2-5) \times 10^{-6}$ мас. %, Zn, Ni и Se 5×10^{-6} – 2×10^{-5} мас. %. К сожалению, в настоящее время данный метод практически не используется в виду труднодоступности аналитического оборудования.

Для получения высокочистой серы применяются химические, дистилляционные и кристаллизационные методы, а также их комбинации. Основным материалом аппаратуры для получения высокочистой серы является высокочистое кварцевое стекло. Все образцы серы, очищаемые высокотемпературными методами, отличаются повышенным содержанием кремния из-за образования кремнесульфидов под действием расплава серы на стенки аппаратуры [11]. К сожалению, кремний обычно не входит в круг определяемых примесей большинства известных методик анализа серы, как правило из-за сравнительно высокого уровня загрязнения в процессе пробоподготовки. Тем не менее в работе [39] показано, что при автоклавном растворении образцов серы в сосудах из высокочистого фторопласта с применением дистиллированной без кипения азотной кислоты возможно определять кремний с пределом определения 2×10^{-5} мас.%, а также примеси Ag, Al, As, Au, B, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Ge, In, K, La, Li, Mg, Mn, Na, Nb, Ni, P, As, Rb, Sb, Sc, Se, Sn, Sr, Ta, Te, Ti, Tl, V, W, Y, Zn, Zr методом АЭС-ИСП с пределами обнаружения в диапазоне 5×10^{-8} – 7×10^{-5} мас. %.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПРИМЕСЕЙ

Молекулярные примеси в сере являются значительным источником загрязнений, снижающих качество серосодержащих материалов. Например, наиболее интенсивно поглощающие свет примеси в световодах на основе стекла As_2S_3 представляют собой соединения углерода, кислорода, водорода. Их допустимые концентрации в таком стекле с минимальными оптическими потерями на уровне собственных не должны превышать 1×10^{-7} – 1×10^{-6} ат. % [18]. Сера, как один из компонентов сульфидно-мышьяковых стекол, является главным источником данных веществ. Анализ образцов коммерческой особо чистой серы показывает, что основной химической формой присутствия углерод- и водородсодержащих примесей в сере являются углеводороды с различной длиной цепи, а также сероводород, сероуглерод и диоксид серы [40].

Молекулярный примесный состав серы является сложным и многообразным [41]. Примеси в ней условно можно разделить на несколько групп: с низкой молекулярной массой, с массой около 400, смолы с молекулярной массой около 1000, асфальтены с молекулярной массой порядка нескольких тысяч а. е. м. [22, 41]. Эти соединения относятся к классу углеводородов, их тио- и азотпроизводным, а также могут являться продуктами крекинга и сульфирования данных

веществ. Особенностью их определения является сложность идентификации компонентов, образующих данные группы соединений. Сведения о точном составе и структуре таких соединений в сере нами не найдены.

Ввиду сложного примесного состава серы широкое применение для ее анализа нашли подходы, связанные с определением общего содержания углеродсодержащих соединений, которое не зависит от формы их нахождения.

В работе [42] для определения углеродсодержащих примесей серу кипятили в стеклянной пробирке в течение 2–3 мин. При охлаждении и затвердевании на ее поверхности происходило выделение темных пятен, площадь которых использовали для оценки общей концентрации примесей углеродсодержащих веществ. Методика позволяет контролировать общее содержание органических веществ в сере на уровне до 4×10^{-2} мас. %.

В работе [43] предложено растворять серу в олеуме при температуре до 100°C . При этом происходит сульфирование органических веществ с образованием соединений различной интенсивности окрашивания в зависимости от их концентрации. Примеси определяли фотометрическим методом. Содержание органических веществ оценивали по установленной концентрации углерода. Методика позволяет определять концентрацию углеродсодержащих веществ на уровне до 10^{-3} мас. %.

В работе [21] для определения битумов серу сжигали в фарфоровой чашке. После удаления серы битумы в виде темного пятна оставались на дне чашки, их затем растворяли в серной кислоте. По интенсивности окрашивания полученного раствора определяли суммарную концентрацию данных соединений. Методика позволяет оценивать концентрацию битумов на уровне до 2×10^{-3} мас. %.

В работе [44] для определения битумов навеску серы массой 2–5 г плавил и полностью отгоняли. Нелетучий остаток растворяли в азотной кислоте, упаривали досуха и растворяли в серной кислоте. После этого полученный раствор окрашивался в желто-коричневый цвет. По интенсивности окрашивания методом колориметрии определяли интегральную концентрацию битумов. Методика позволяет при массе пробы 25 г достичь предела обнаружения битумов 4×10^{-5} мас. %.

Более широкое применение для определения углеродсодержащих примесей нашли методы, связанные с переводом их в диоксид углерода с последующим его определением и оценкой общей концентрации окисленных веществ.

Так, в работе [45] предложено определять углеродсодержащие примеси путем сжигания пробы серы с дальнейшим поглощением об-

разовавшегося углекислого газа натровой известью и его гравиметрическим определением. Другим вариантом определения диоксида углерода является абсорбция его раствором аммиака и установление количества по величине помутнения образующегося раствора. В работе [46] для определения общего углерода серу сжигали при нагревании в токе кислорода. Образующиеся оксиды серы поглощали растворами хромовой и серной кислот. Диоксид углерода поглощали раствором гидроксида бария с последующим его определением методом титриметрии. Предел обнаружения углеродсодержащих веществ составил 5×10^{-3} мас. %. В работах [47, 48] углеродсодержащие соединения переводили в диоксид углерода окислением серы в потоке кислорода. Диоксид серы отделяли, пропуская через охлажденный до -50°C раствор серной кислоты и пероксида водорода. Диоксид углерода определяли кондуктометрически по изменению электропроводности водного раствора гидроксида натрия. Предел обнаружения углерода при массе пробы серы 1 г составил 2.4×10^{-4} мас. %.

В работе [49] серу массой 10 г помещали в ампулы объемом 20–30 мл. При нагревании до 80°C удаляли поверхностные загрязнения. Далее серу нагревали до 800°C в течение 1 ч в среде кислорода. Примеси определяли методом газовой хроматографии. Для разделения N_2 и Ar использовали колонку 25 см $\times$ 4 мм из нержавеющей стали, охлаждаемую жидким азотом. Для разделения диоксида углерода, сероводорода, диоксида серы и сероокиси углерода использовали колонку 4.25 м $\times$ 3 мм с сорбентом Полисорб 1. Для определения концентрации углерода в сере использовали данные по установленным концентрациям диоксида углерода и сероокиси углерода. Предел обнаружения углерода в сере составил 6×10^{-6} мас. %.

В работе [50] серу сжигали в кварцевом реакторе при 800°C . Соединения серы удаляли из газовой пробы пропусканием через охлаждаемую до -10°C ловушку. Определение CO_2 проводили на газовом хроматографе с детектором по теплопроводности. Для разделения компонентов смеси O_2 , SO_2 и CO_2 использовали колонку 1.8 м $\times$ 2 мм с сорбентом Chromosorb 108. Предел обнаружения углеродсодержащих веществ составил 1.5×10^{-3} мас. %.

В работе [51] серу массой 0.1–0.5 г помещали в масс-спектрометрическую ампулу из кварцевого стекла, вакуумировали и затем нагревали до 750°C в течении 3 ч. При этом примесные углеводороды, взаимодействуя с серой, превращались в CS_2 и H_2S . Присутствие в сере молекулярного кислорода, SO_2 и H_2O наряду с углеродсодержащими веществами приводило к образованию диоксида углерода. образо-

вавшиеся газы из пробы извлекали вакуумной экстракцией и определяли их методом газовой хроматографии. Для разделения этих веществ использовали колонку длиной 2 м с сорбентом Силохром С-80. Концентрации образовавшихся CS_2 и CO_2 использовали для расчета содержания в сере углерода. Предел обнаружения углеродсодержащих веществ для пробы массой 1 г составил 1×10^{-5} мас. %.

В работе [52] для определения общего углерода в сере навеску 0.1–1.5 г вместе с 0.025 г свежепрокаленного CuO помещали в прокаленную кварцевую ампулу. Ее вакуумировали и подвергали термообработке при 800°C в течение 4 ч. Продукты окисления отбирали в промежуточную ампулу, охлаждаемую жидким азотом, а затем в кювету для ИК-спектрометрического определения углекислого газа. Предел обнаружения общего углерода в сере составил 3×10^{-5} мас. %.

На развитие методов глубокой очистки серы большое влияние оказывает информация о конкретных присутствующих в ней примесях. В связи с этим определение в сере индивидуальных веществ является актуальной задачей.

Так, в работе [53] для идентификации примесей использовали метод ИК-спектроскопии. При этом получали расплав серы при температуре 125°C . Установили примеси CS_2 , H_2S , алифатические углеводороды. Предел обнаружения углеводородов составил 2×10^{-5} мас. %. В работе [54] навеску серы массой 0.39 г спрессовывали в таблетки и определяли в ней примеси методом ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье. Установили примеси H_2S , CS_2 , углеводородов. Пределы обнаружения примесей составили 1×10^{-4} мас. %.

В работе [55] определяли содержания водорода, входящего в состав примесей органических веществ. Для этого навеску серы массой 1 г помещали в ампулу, которую затем запаивали и выдерживали при 500°C в течение 6 ч. Образовавшийся при пиролизе углеводородов сероводород реагировал с раствором йода. Избыток йода титровали и оценивали концентрацию водорода в сере. Методика позволяет определять водород на уровне до 10^{-2} мас. %.

В работе [56] для определения примесей использовали метод газовой хроматографии. Серу помещали в ампулу из кварцевого стекла и нагревали до 150°C . Выделяющиеся из расплава примеси концентрировали на сорбенте с молекулярными ситами 3А при температуре жидкого азота. По окончании экстракции примеси из сорбента переводили в ампулу, разбавляли гелием и анализировали. Для регистрации постоянных газов и диоксида углерода использовали пироэлектрический катарометр, для серосодержащих веществ — пламенно-фотоме-

трический детектор, углеводороды определяли с помощью пламенно-ионизационного детектора. В сере ос. ч. 16-5 найдены примеси азота, кислорода, оксида углерода, сероводорода, сероуглерода, диоксида серы. Пределы их обнаружения для пробы массой 1 г составили 1×10^{-7} , 1×10^{-7} , 4×10^{-8} , 8×10^{-9} , 3×10^{-9} , 9×10^{-8} мас. % соответственно.

В работе [57] в сере установили примеси бензотиофенов. Для этого растворяли серу в сульфиде натрия с дальнейшим жидкофазным экстракционным концентрированием примесей. Разделение проводили в колонке DB-5ms 30m $\times$ 0.32 мм $\times$ 0.25 мкм. Регистрацию осуществляли с помощью пламенно-фотометрического детектора. Для идентификации использовали метод хромато-масс-спектрометрии. Установили примеси бензотиофена, дибензотиофена, 4,6-диметилдибензотиофена. Пределы их обнаружения составили $(2-8) \times 10^{-5}$ мас. %.

Методом хромато-масс-спектрометрии определяли примеси в сере, полученной из углеводородных газов окислением присутствующего в них сероводорода на бокситных катализаторах [40], и в сере ос. ч. 16-5 [58, 59]. Пробоподготовка заключалась в извлечении примесных веществ из расплава серы при ее полной вакуумной перегонке. Выделенные примеси конденсировали в ампуле из молибденового стекла, охлаждаемой жидким азотом. Для хроматографического разделения примесей использовали капиллярную колонку GS-GasPro 60 м $\times$ 0.32 мм с модифицированным силикагелем в качестве сорбента и колонку с сорбентом политриметилсилилпропином 25 м $\times$ 0.26 мм, $df = 0.25$ мкм. Установлено присутствие в сере 51 примесного вещества. Среди них постоянные газы, тиофены, кислород-, азотсодержащие вещества, предельные, непредельные и ароматические углеводороды C_2-C_8 . В работе [58] найдены концентрации примесей большинства этих веществ; они составили $10^{-3}-10^{-8}$ мас. %.

В работе [7] исследовали примесный состав изотопно обогащенной серы ^{32}S и ^{34}S , полученной плазмохимическим восстановлением $^{32}\text{SF}_6$ и $^{34}\text{SF}_6$ [60]. Пробоподготовку также осуществляли извлечением примесных веществ из расплава серы при ее перегонке. Методом хромато-масс-спектрометрии установлены примеси атмосферных газов, углеводородов C_3-C_6 , серосодержащих газов. Их концентрации составили $10^{-7}-10^{-5}$ мас. %.

Использование метода хромато-масс-спектрометрии для анализа серы позволило существенно расширить информацию о природе присутствующих в ней примесях (табл. 2). Из таблицы видно, что в сере найдено более 50 примесных веществ, относящихся к различным классам соединений.

Таблица 2. Примеси, установленные в сере [7, 40, 58, 59]

Группа соединений	Примеси
Постоянные газы	N ₂ , Ar, O ₂ , CO ₂ , N ₂ O
Углеводороды	C ₂ H ₂ , C ₂ H ₄ , C ₂ H ₆ , C ₃ H ₆ , C ₃ H ₈ , C ₄ H ₈ 1-бутен, C ₄ H ₈ 2-бутен, C ₄ H ₈ 1-пропен-2-метил, <i>n</i> -C ₄ H ₁₀ , <i>изо</i> -C ₄ H ₁₀ , C ₅ H ₁₀ 1-пентен, C ₅ H ₁₀ 1-бутен-2-метил, C ₅ H ₁₀ 2-пентен, C ₅ H ₁₀ 2-бутен-2-метил, <i>n</i> -C ₅ H ₁₂ , C ₆ H ₆ , C ₆ H ₁₂ циклогексен, <i>n</i> -C ₆ H ₁₄ , C ₆ H ₁₂ 1-гексен, C ₇ H ₈ толуол, C ₇ H ₁₄ 1-гептен, <i>n</i> -C ₇ H ₁₆ , C ₈ H ₁₆ 2-октен, C ₈ H ₁₆ 3-октен, C ₈ H ₁₆ 4-октен, <i>n</i> -C ₈ H ₁₈
Кислородсодержащие углеводороды	C ₂ H ₄ O ₂ метилформиат, C ₂ H ₆ O ацетальдегид, C ₂ H ₆ O диметиловый эфир, C ₃ H ₆ O пропаналь, C ₃ O ₂ H ₆ метилацетат, C ₄ OH ₈ пропаналь-2-метил, C ₄ H ₄ O фуран, C ₄ H ₈ O 2-бутанон, C ₄ H ₈ O ₂ метилпропионат, C ₄ H ₈ O ₂ метилметакрилат C ₅ H ₁₀ O 3-метил-бутаналь, C ₅ H ₁₀ O 2-метил-бутаналь, C ₅ H ₁₀ O ₂ метил-2-метилпропионат
Азотсодержащие углеводороды	C ₃ H ₅ N пропаннитрил, C ₂ H ₃ SN изотиоцианатометан, C ₂ H ₃ N ацетонитрил
Серосодержащие вещества	COS, H ₂ S, CS ₂ , SO ₂ , C ₄ H ₄ S тиюфен, C ₅ H ₆ S 2-метилтиюфен, C ₃ H ₆ S 3-метилтиюфен

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕТЕРОФАЗНЫХ ПРИМЕСНЫХ ВКЛЮЧЕНИЙ

* * *

Сведения о примесных включениях в сере многочисленны, что связано с трудностью определения их содержания и размеров. Установлено, что в основном гетерогенные частицы состоят из углерода и соединений серы с металлами [61]. Большое влияние на прозрачность серосодержащих стекол оказывает диоксид кремния в виде гетерогенных включений. Данные включения должны контролироваться и их концентрации в высокочистой сере не должны превышать 10^{-7} мас. % [19].

В работе [62] для определения гетерофазных включений использовали метод лазерной ультрамикроскопии. Для этого серу, находящуюся в стеклянной ампуле поперечного квадратного сечения, переводили в расплав при 120–125°C. Эффективный диаметр определяемых частиц лежал в интервале 0.08–0.3 мкм. Диапазон определяемых концентраций составил 2×10^3 – 5×10^7 частиц/см³. Охарактеризован примесный состав серы ос. ч. 16-5. Установлено, что содержание частиц в ней находится на уровне $n \times 10^6$ в см³. Их средний диаметр составляет 0.09 мкм, а максимальный — 0.15 мкм.

В работе [61] в основе определения частиц лежал метод лазерной ультрамикроскопии. Сери помещали в ячейку из молибденового стекла с плоскопараллельными стенками и плавил при 150°C. Предел обнаружения частиц составил 0.04 мкм. Диапазон определяемых концентраций составил от 10^3 до 10^8 см⁻³. Проанализирована сера ос. ч. 16-5 и установлено, что численная концентрация частиц размером более 0.04 мкм превышает 10^8 см⁻³.

Рассмотрены литературные данные по методам и методикам контроля в сере примесей элементов, молекулярных веществ и гетерофазных включений. Описаны методики регистрации примесей с использованием различных методов, их аналитические характеристики и особенности применения. В настоящее время в высокочистой сере определяют более 40 примесей элементов и более 50 веществ молекулярного строения. Контроль элементов проводят на уровне до 10^{-10} – 10^{-5} мас. %, молекулярных соединений — до 10^{-9} – 10^{-5} мас. %, гетерофазных включений диаметром до 0.04 мкм — в диапазоне концентраций 10^3 – 10^8 см⁻³. Повышение предельных возможностей методов высокочувствительного анализа серы связано с развитием аналитического оборудования, применением новых подходов к регистрации примесей, повышением разрешающей способности и селективности их детектирования, развитием методов концентрирования определяемых веществ [1, 63].

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда РНФ № 22-13-00226, <https://rscf.ru/project/22-13-00226/>

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чурбанов М. Ф. Высокочистые сера, селен, теллур / Высокочистые вещества / Под ред. Чурбанова М. Ф., Карпова Ю.А., Зломанова П.В., Федорова В.А. М.: Научный мир, 2018. 994 с.
2. Девярых Г.Г., Чурбанов М.Ф. Высокочистые халькогены. Нижний Новгород: Издательство Нижегородского государственного университета им. Н. И. Лобачевского, 1997. 244 с.
3. Adam J.-L., Zhang X. Chalcogenide Glasses. Preparation, Properties and Applications. Oxford, Cambridge, Philadelphia, New Delhy: Woodhead publishing limited, 2014. 704 p.
4. Чурбанов М.Ф. Актуальные задачи химии высокочистых веществ // Неорганические материалы. 2009. Т. 45. № 9. С. 1029. (Churbanov M.F. Relevant problems of chemistry of high-purity substances // Inorg. Mater. 2009. V. 45. № 9. P. 955.)
5. Гавришук Е.М., Караксина Э.В. Сравнительный анализ свойств поликристаллического сульфида цинка как материала ИК-оптики // Журн. неорг. химии. 2003. Т. 39. № 7. С. 786.
6. Сергеева Н.М., Богданов С.П., Омаров Ш.О. Синтез и изучение люминофоров на основе твердого раствора сульфидов кадмия и цинка // Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета). 2018. Т. 72. № 46. С. 56.
7. Суханов М.В., Сторожева Т.В., Евдокимов И.И., Пименов В.Г., Созин А.Ю., Котерева Т.В. Глубокая очистка моноизотопной серы ^{32}S и ^{34}S // Неорганические материалы. 2017. Т. 53. № 2. С. 126. (Sukhanov M.V., Storozheva T.I., Evdokimov I.I., Pimenov V.G., Sozin A.Y., Kotereva T.V. Fine purification of monoisotopic ^{32}S and ^{34}S // Inorg. Mater. 2017. V. 53. № 2. P. 142.)
8. Tveryanovich Y.S., Pankin D.V., Sukhanov M.V., Churbanov M.F. Isotope effect in Raman scattering spectra of $^{32}\text{S}_8$ – $^{34}\text{S}_8$ solid mixtures // Optik. 2021. Т. 240. Article 166861.
9. Юшкин Н.П. Минералогия и парагенезис самородной серы в экзогенных месторождениях. Л.: Наука. Ленингр. отд., 1968. 187 с.
10. Девярых Г.Г., Чурбанов М.Ф. Определение микропримесей в халькогенах // Высокочистые вещества. 1990. № 1. С. 32.
11. Чурбанов М.Ф., Скрипачев И.В. Получение высокочистой серы // Высокочистые вещества. 1988. № 3. С. 92.
12. Бахмен К. Актуальные проблемы материаловедения. М.: Мир, 1982. С. 7.
13. Девярых Г.Г., Дианов Е.М., Плотниченко В.Г., Скрипачев И.В., Чурбанов М.Ф. Волоконные световоды на основе высокочистых халькогенидных стекол // Высокочистые вещества. 1991. № 1. С. 7.
14. Ширяев В.С., Сметанин С.В., Овчинников Д.К., Чурбанов М.Ф., Крюкова Е.Б., Плотниченко В.Г. Влияние примесей кислорода и углерода на оптическую прозрачность стекла As_2S_3 // Неорганические материалы. 2005. Т. 41. № 3. С. 369. (Shiryaev V.S., Smetanin S.V., Ovchinnikov D.K., Churbanov M.F., Kryukova E.B., Plotnichenko V.G. Effects of oxygen and carbon impurities on the optical transmission of As_2S_3 glass // Inorg. Mater. 2005. V. 41. № 3. P. 308.)
15. Снопатин Г.Е., Матвеева М.Ю., Буцын Г.Г., Чурбанов М.Ф., Крюкова Е.Б., Плотниченко В.Г. Влияние примеси диоксида серы на оптическую прозрачность стекла As_2S_3 // Неорганические материалы. 2006. Т. 42. № 12. С. 1516. (Snopatin G.E., Matveeva M.Yu., Butsyn G.G., Churbanov M.F., Kryukova E.B., Plotnichenko V.G. Effect of SO_2 impurity on the optical transmission of As_2S_3 glass // Inorg. Mater. 2006. V. 42. № 12. P. 1388.)
16. Churbanov M.F. High-purity chalcogenide glasses as materials for fiber optics // J. Non-Cryst. Solids. 1995. V. 184. P. 25.
17. Devyatykh G.G., Churbanov M.F., Skripachev I.V., Snopatin G.E., Dianov E.M., Plotnichenko V.G. Recent developments in As-S glass fibres // J. Non-Cryst. Solids. 1999. V. 256–257. P. 318.
18. Snopatin G.E., Churbanov M.F., Pushkin A.A., Gerasimenko V.V., Dianov E.M., Plotnichenko V.G. High purity arsenic-sulfide glasses and fibers with minimum attenuation of 12 dB/km // J. Optoelectron. Adv. Mater. 2009. V. 3. № 7. P. 669.
19. Churbanov M.F., Skripachev I.V., Snopatin G.E., Ketkova L.A., Plotnichenko V.G. The problems of optical loss reduction in arsenic sulfide glass IR fibers // Opt. Mater. 2020. V. 102. Article 109812.
20. Девярых Г.Г., Карпов Ю.А., Осипова Л.И. Выставка-коллекция веществ особой чистоты. М.: Наука, 2003. 236 с.
21. ТУ 6-09-2546-77. Сера элементарная. Марки “ос. ч.” 16-5, “ос. ч.” 14-4, “ос. ч.” 15-3. Технические условия.
22. Менковский М.А., Яворский В.Т. Технология серы. М.: Химия, 1985. 327 с.
23. Менковский М.А., Аренс В.Ж., Жаворонок В.И., Зыков В.А., Иванников Т.А., Костырко А.С., Мельник В.П., Певзнер М.Е. Природная сера. М.: Химия, 1972. 240 с.
24. Егоров А.П., Шерешевский А.А., Шманков И.В. Общая химическая технология неорганических веществ. М.: Химия, 1964. 688 с.
25. Грунвальд В.Л. Технология газовой серы. М.: Химия, 1992. 272 с.
26. ГОСТ 127.1-93. Сера техническая. Технические условия. Минск: Издательство стандартов, 1996. 9 с.
27. ГОСТ 127.4-93. Сера молотая для резиновых изделий и каучуков. Минск: Издательство стандартов, 1996. 10 с.
28. ГОСТ 56249-2014. Сера газовая техническая. М.: Стандартинформ, 2019. 23 с.

29. Бусев А.И., Симонова Л.Н. Аналитическая химия серы. Аналитическая химия элементов. М.: Наука, 1975. 272 с.
30. ГОСТ 127.2-93. Сера техническая. Методы испытаний. Минск: ИПК Издательство стандартов, 1996. 48 с.
31. Методы анализа веществ высокой чистоты / Под ред. Алимарина И.П. М.: Наука, 1965. 528 с.
32. Алексеева А.Н. Современное состояние методов определения примесей в сере / Методы анализа веществ высокой чистоты. М.: Наука, 1965. С. 422.
33. Рудневский Н.К., Малкова О.П. Спектральный метод анализа серы / Труды по химии и химической технологии. Горький: ГГУ, 1960. С. 367.
34. Фраткин З.Г., Андреева И.Ю. Определение в сере примесей металлов // Заводск. лаборатория. 1960. Т. 26. С. 1370.
35. Рудневский Н.К., Малкова О.П. Спектральный метод определения примесей металлов в сере высокой чистоты / Труды по химии и химической технологии. Горький: ГГУ, 1962. С. 336.
36. Xuebo Yin, Xiaoyuan Wang, Shuai Chen, Yao Ma, Guo Kun, Zhigang Zeng. Trace element determination in sulfur samples using a novel digestion bomb prior to ICM-MS analysis // *At. Spectrosc.* 2018. V. 39. № 4. P. 137.
37. Малышев А.Ю., Пименов В.Г., Зайцева Е.А. Определение примесей мышьяка, сурьмы и селена в высокочистой сере // *Аналитика и контроль.* 2000. Т. 4. № 4. С. 329.
38. Гайворонский П.Е., Рябинин И.Б., Ларин Н.В., Агафонов И.Л. Рентгенофлуоресцентное определение мышьяка, селена и теллура с предварительным концентрированием примесей / Получение и анализ чистых веществ. Горький: ГГУ, 1982. С. 85.
39. Пименов В.Г., Фадеева Д.А., Евдокимов И.И., Лебедева Р.В. АЭС-ИСП-анализ высокочистых мышьяка, серы и селена — прекурсоров оптических халькогенидных стекол / Высокочистые вещества и материалы. Получение, анализ, применение. Тезисы докладов XV конференции. Н. Новгород, 26–29 мая 2015 г. / Под ред. Чурбанова М.Ф. Нижний Новгород: Печатная мастерская РАДОНЕЖ, 2015. 216 с.
40. Созин А.Ю., Чурбанов М.Ф., Чернова О.Ю., Сорочкина Т.Г., Скрипачев И.В., Снопатин Г.Е. Идентификация примесей в высокочистой сере с использованием метода хромато-масс-спектрометрии // *Аналитика и контроль.* 2017. Т. 21. № 3. С. 225.
41. Крылов В.А. Определение углерода, кислорода, водорода и азота в халькогенах и мышьяке высокой чистоты // *Высокочистые вещества.* 1994. № 5. С. 116.
42. Bacon R., Fanelli R. Purification of sulfur // *Ind. Eng. Chem.* 1942. V. 34. № 9. P. 1043.
43. Рыжкова А.А., Зайцев П.М., Варшавская Л.М., Марков А.Д. Способ определения органических примесей в сере. Патент РФ № 1807354. Заявка 4851821 от 16.07.1990, опублик. 7.04.1993.
44. Алексеева А.Н., Шушканова И.М. Определение содержания примеси битумов в элементарной сере высокой степени чистоты // *Заводск. лаборатория.* 1961. Т. 27. № 7. С. 811.
45. Murphy T.J., Clabaugh W.S. *Raleigh Gilchrist.* Preparation of sulfur of high purity // *J. Res. Natl. Bureau Stand. — A. Phys. Chem.* V. 64A. № 4. 1960. P. 355.
46. ГОСТ 30355.1-96. Сера техническая. Определение общего содержания углерода. Титриметрический метод. М.: Изд-во стандартов. 1999. 8 с.
47. Feher F., Lutz H.D., Obst K. Die Darstellung non hoehreinem Schwefel durch Zonenschmelzen // *Z. Anal. Chem.* 1967. V. 224. S. 407.
48. Feher F., Eckhard S., Sauer K.H. Die analytische Charakteristik des kauflichen und des gereinigten Schwefels // *Z. Anal. Chem.* 1959. V. 168. P. 88.
49. Малышев А.Ю., Крылов В.А., Буланов А.Д., Адамчик С.А. Газохроматографическое определение углеродсодержащих примесей в высокочистой сере // *Журн. аналит. химии.* 2000. Т. 55. № 7. С. 770. (Malyshov A. Yu., Krylov V.A., Bulanov A.D., Adamchik S.A. Gas-Chromatographic determination of carbon-containing impurities in high-purity sulfur // *J. Anal. Chem.* 2000. V. 55. № 7. P. 691.)
50. Dowling N.I., Bernard F., Leung J., Lesage K.L. Analytical procedure for the determination of trace carbon impurity in elemental sulfur // *J. Sulfur Chem.* 2008. V. 29. № 2. P. 129.
51. Чурбанов М.Ф., Чугунова С.Г., Девятых Г.Г. Газохроматографическое определение углерода в сере // *Журн. аналит. химии.* 1973. Т. 28. № 2. С. 385.
52. Суханов М.В., Благин Р.Д., Вельмузов А.П. Содержание углерода в сере, летучей и нелетучей фракциях ее дистилляции // *Неорганические материалы.* 2021. Т. 57. № 8. С. 886. (Sukhanov M.V., Blagin R.D., Velmuzhov A.P. Carbon content of sulfur and nonvolatile sulfur distillation fractions // *Inorg. Mater.* 2021. V. 87. № 8. P. 843.)
53. Адамчик С.А., Сенников П.Г., Буланов А.Д. Очистка серы от примесей углеводородов термохимическим методом // *Неорганические материалы.* 2000. Т. 36. № 6. С. 725. (Adamchik S.A., Sennikov P.G., Bulanov A.D. Thermochemical purification of sulfur from hydrocarbons // *Inorg. Mater.* 2000. V. 36. № 6. P. 599.)
54. Susman S., Roelabdt S.S., Volin K.J. The purification of elemental sulfur // *J. Mater. Res.* 1992. V. 7. № 6. P. 1526.
55. Бонь М.Д., Лукаш И.К., Пяртли В.М. Количественное определение водорода в органических соединениях, содержащихся в сере // *Заводск. лаборатория.* 1966. № 4. С. 411.
56. Ежелева А.Е., Малыгина Л.С., Чурбанов М.Ф. Газохроматографическое определение растворенных газов и других летучих веществ в халько-

- генах и халькогенидах // Журн. аналит. химии. 1982. Т. 37. № 8. С. 1502.
57. Крылов В.А., Чурбанов М.Ф., Чернова О.Ю., Созин А.Ю. Газохроматографическое определение бензотиофенов в сере высокой чистоты // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72. № 6. С. 552. (Krylov V.A., Churbanov M.F., Chernova O.Y., Sozin A.Y. Gas chromatographic determination of benzothiofenenes in high-purity sulfur // J. Anal. Chem. 2017. V. 72. № 6. P. 639.)
 58. Чурбанов М.Ф., Снопатин Г.Е., Созин А.Ю., Скрипачев И.В. Молекулярный состав примесей органических веществ в особо чистой сере // Неорганические материалы. 2017. Т. 53. № 9. С. 989. (Churbanov M.F., Snopatin G.E., Sozin A.Y., Skripachev I.V. Molecular composition of organic impurities in extrapure sulfur // Inorg. Mater. 2017. V. 53. № 9. P. 969.)
 59. Velmuzhov A.P., Sukhanov M.V., Churbanov M.F., Zernova N.S., Ketkova L.A., Sozin A.Yu., et al. Sulfur as the source of hydrogen impurity and heterogeneous inclusions in the Ge-Ga-S glasses // J. Non-Cryst. Solids. 2020. V. 545. P. Article 120237.
 60. Mochalov L.A., Kornev R.A., Churbanov M.F., Sennikov P.G. Investigation of the process of hydrogen reduction of ^{32}S from $^{32}\text{SF}_6$ via RF capacitive plasma discharge // J. Fluorine Chem. 2014. V. 160. № 4. P. 48.
 61. Крылов В.А., Лазукина О.П., Кеткова Л.А., Буланов А.Д., Адамчик С.А., Кобыща Д.Г. Определение взвешенных частиц субмикронного размера в высокочистой сере методом лазерной ультрамикроскопии // Журн. аналит. химии. 2000. Т. 55. № 3. С. 326. (Krylov V.A., Lazukina O.P., Ketkova L.A., Bulanov A.D., Adamchik S.A., Kobyshecha D.G. Determination of suspended particles of submicron size in high-purity sulfur using laser ultramicroscopy // J. Anal. Chem. 2000. V. 55. № 3. P. 291.)
 62. Девятых Г.Г., Чурбанов М.Ф., Ширяев В.С., Снопатин Г.Е., Герасименко В.В. Гетерофазные примесные включения в особо чистых халькогенах и мышьяке // Неорганические материалы. 1998. Т. 34. № 9. С. 1081. (Devyatykh G.G., Churbanov M.F., Shiryayev V.S., Snopatin G.E., Gerasimenko V.V. Impurity inclusions in extra-pure arsenic and chalcogens // Inorg. Mater. 1998. V. 34. № 9. P. 902.)
 63. Созин А.Ю., Крылов В.А., Чернова О.Ю., Сорочкина Т.Г., Буланов А.Д., Котков А.П. Некоторые перспективы развития методов анализа высокочистых летучих веществ // Журн. аналит. химии. 2023. Т. 78. № 5. С. 387. (Sozin A.Yu., Krylov V.A., Chernova O.Yu., Sorochkina T.G., Bulanov A.D., Kotkov A.P. Prospects for the development of methods for the analysis of high-purity volatile substances // J. Anal. Chem. 2023. V. 78. № 5. P. 535.)

REVIEWS

METHODS FOR INVESTIGATING THE IMPURITY COMPOSITION OF HIGH-PURITY SULFUR

M. F. Churbanov^a, I. V. Skripachev^a, A. Yu. Sozin^{a,*}, I. I. Evdokimov^a

^aG. G. Devyatykh Institute of Chemistry of High-Purity Substances of the Russian Academy of Sciences,
603950 Nizhny Novgorod, Russia

*E-mail: Sozin@ihps-nnov.ru

Address. The review is devoted to examining scientific achievements in the determination of impurities, molecular compounds, and heterophase inclusions in high-purity sulfur. The known methods for determining these impurities using atomic emission spectroscopy, mass spectrometry, colorimetry, gravimetry, titrimetry, turbidimetry, conductometry, gas chromatography, IR spectroscopy, chromatography-mass spectrometry, and laser ultramicroscopy are characterized.

Keywords: high-purity sulfur, impurities, detection limit, analysis methods.

УДК.543.422.3.546.72.3

СТРОЕНИЕ 2-(((1-(3-БРОМФЕНИЛ)ЭТИЛИДЕН)ГИДРАЗОНО)МЕТИЛ)ФЕНОЛА И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ ЖЕЛЕЗА(III)

© 2024 г. Ч. А. Мамедова^{a,*}, С. Р. Гаджиева^a, Ф. С. Алиева^a, Ф. М. Чырагов^a^aБакинский государственный университет, химический факультет
ул. З. Халилова 23, Баку, Az 1148, Азербайджан

*E-mail: chinara.mamedova.86@mail.ru

Поступила в редакцию 21.09.2023 г.

После доработки 30.11.2023 г.

Принята к публикации 01.12.2023 г.

Синтезирован новый реагент на основе салицилового альдегида, определена кристаллическая структура и спектрофотометрическим методом изучено комплексообразование этого реагента с железом(III). Методом рентгеноструктурного анализа установлено кристаллическое строение реагента. Потенциометрическим методом в водно-этанольной среде определена константа диссоциации реагента: $pK = 9.66 \pm 0.02$. Исследовано взаимодействие железа(III) с 2-(((1-(3-бромфенил)этилиден)гидразон)метил)фенолом в присутствии и в отсутствие диантипирилметана (ДАМ), диантипирилфенилметана (ДАФМ) и диантипирилпропилметана (ДАПМ). Найдены оптимальные условия комплексообразования ($\lambda_{\text{опт}}$, $pH_{\text{опт}}$). Установлено, что железо(III) с реагентом образует окрашенные смешаннолигандные комплексы в присутствии третьих компонентов – ДАМ, ДАФМ и ДАПМ, при этом наблюдается гипсохромный сдвиг в спектре поглощения, а максимальный выход комплексов достигается в более кислой среде по сравнению с бинарным комплексом. Определены молярные коэффициенты поглощения комплексов и интервалы подчинения закону Бера. Установлено соотношение компонентов в составе однородно- и смешаннолигандных комплексов методами изомолярных серий, относительного выхода Старика–Барбанеля и сдвига равновесия. Все методы показали, что соотношение компонентов Fe(III)–R в бинарном комплексе равно 1 : 2, а в смешаннолигандных комплексах Fe(III)–R–ДАМ, Fe(III)–R–ДАФМ и Fe(III)–R–ДАПМ – 1 : 2 : 1, 1 : 1 : 1 и 1 : 1 : 2 соответственно. Смешаннолигандные комплексы железа(III) с 2-(((1-(3-бромфенил)этилиден)гидразон)метил)фенолом характеризуются хорошими химико-аналитическими характеристиками. Разработанная методика применена для определения микроколичеств железа(III) в нефтешламах.

Ключевые слова: строение комплексных соединений, рентгеноструктурный анализ, спектрофотометрический метод, комплексообразование железа(III), салициловый альдегид, смешаннолигандные комплексы, диантипирилметан, диантипирилфенилметан, диантипирилпропилметан.

DOI: 10.31857/S0044450224080038, EDN: tjuzgd

Известно, что многие соединения железа(III) обладают ценными свойствами и широко применяются в промышленности. В связи с этим особое внимание уделяется определению железа(III) в природных и промышленных объектах. Для фотометрического определения железа(III) в таких объектах используют органические реагенты, содержащие различные типы функциональных аналитических групп. Применение большинства реагентов в анализе не всегда дает удовлетворительные результаты. По этой причине перспективна разработка новых методик спек-

трофотометрического определения железа(III), основанных на образовании комплексов с органическими реагентами, содержащими в своем составе ОН-группы и донорные атомы азота. Такие реагенты могут быть легко получены, в частности из салицилового альдегида, который является ключевым предшественником различных хелатообразующих реагентов. Салициловый альдегид превращается в хелатирующие лиганды в результате конденсации с гидразонами, образуя основания Шиффа, представляющими собой альдегидо- или кетонподобные соедине-

ния, в которых карбонильная группа заменена иминной или азометиновой группой. Соединения оснований Шиффа и их металлокомплексы находят применение в качестве катализаторов для различных биологических систем, в промышленности полимеров, красителей, а также в медицине и фармацевтике [1–7]. Таким образом, синтез новых органических реагентов на основе N-незамещенных гидразонов и салицилового альдегида, спектрофотометрическое исследование образуемых ими комплексных соединений с ионами металлов, изучение их физико-химических свойств, разработка чувствительных и селективных методов определения металлов в различных объектах – актуальные задачи.

Проведена реакция конденсации N-незамещенных гидразонов с салициловым альдегидом и синтезирован новый органический реагент – соответствующий несимметричный азин (R) [8] (схема 1).

Цель настоящей работы – синтез 2-(((1-(3-бромфенил)этилиден)гидразон)метил)фенола, изучение его состава и строения методом рентгеноструктурного анализа, исследование комплексообразования железа(III) с 2-(((1-(3-бромфенил)этилиден)гидразон)метил)фенолом в присутствии и в отсутствие гидрофобных аминов – диантипирилметана, диантипирилфенилметана и диантипирилпропилметана, установление условий комплексообразования и разработка методики спектрофотометрического определения микроколичеств железа(III) в нефтяных шламах.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Монокристаллы реагента 2-(((1-(3-бромфенил)этилиден)гидразон)метил)фенола (R) ($C_{15}H_{13}BrN_2O$) получали его двукратной перекристаллизацией из этилового спирта. Для этого 2-(((1-(3-бромфенил)этилиден)гидразон)метил)фенол нагревали в этаноле и после полного растворения хранили при комнатной температуре. Примерно через четыре дня начинали осажаться желтые игольчатые монокристаллы реагента. Полученные кристаллы отделяли с помощью фильтровальной бумаги и сушили. Рентгеноструктурный анализ 2-(((1-(3-бромфенил)этилиден)гидразон)метил)фенола проводили

на дифрактометре Bruker SMART APEX II ($T = 296$ К, $MoK\alpha$ -излучение, графитовый монохроматор, φ - и ω -сканирование, $2\theta_{max} = 50.6^\circ$). Результаты измерения интенсивности отражения обрабатывали с использованием программного обеспечения SADABS. Измерили 16 436 дифракционных рефлекса. Установили, что среднее значение интенсивности эквивалентных отражений равно 3328 свободным дифракционным отражениям. Эти результаты использовали для уточнения и объяснения кристаллической структуры реагента.

Определили молекулярную структуру и параметры кристаллов (табл. 1). Строение реагента (R) расшифровывали прямым методом, уточняли методом наименьших квадратов в анизотропном приближении для неводородных атомов. Монокристалл имеет моноклинную сингонию и состоит из двух ароматических колец. Соединение содержит ион Br^- . Молекула имеет плоскую структуру (рис. 1), в которой имеется одна внутримолекулярная водородная связь: длина $H1 \cdots N2$ равна 1.898 Å. (рис. 1.) Координаты остальных атомов водорода рассчитывали из геометрических соображений и уточняли по модели “наездник”. Все расчеты выполняли с использованием пакета программ SHELXTL [9–11].

Данные о типах водородных связей приведены ниже (D – протонодонор, A – протоноакцептор):

Тип H-связи	D–H	H $\cdots$ A	D $\cdots$ A	$\angle(D-H \cdots A)$
O(1)–H(1O1) $\cdots$ N(2)	0.85 Å	1.90 Å	2.604(9) Å	139.7 град

Константы диссоциации реагента рассчитывали на основе данных потенциометрического титрования в водно-этанольной (1 : 2) среде. Объем титруемых 0.001 М растворов – 50 мл, титрант – 0.02 М раствор КОН, свободный от углекислоты. Ионную силу поддерживали постоянной введением рассчитанного количества KCl. Константы диссоциации реагента рассчитывали по уравнению:

$$-\lg K_{\text{дис}} = \text{pH} + \lg[\text{HA}] - \lg[\text{A}^-].$$

Установили, что $\text{p}K = 9.66 \pm 0.06$.

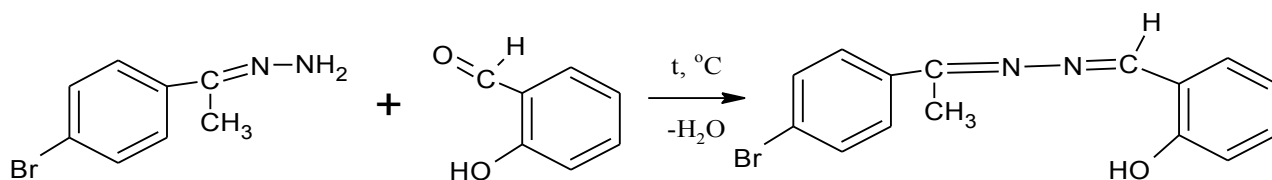
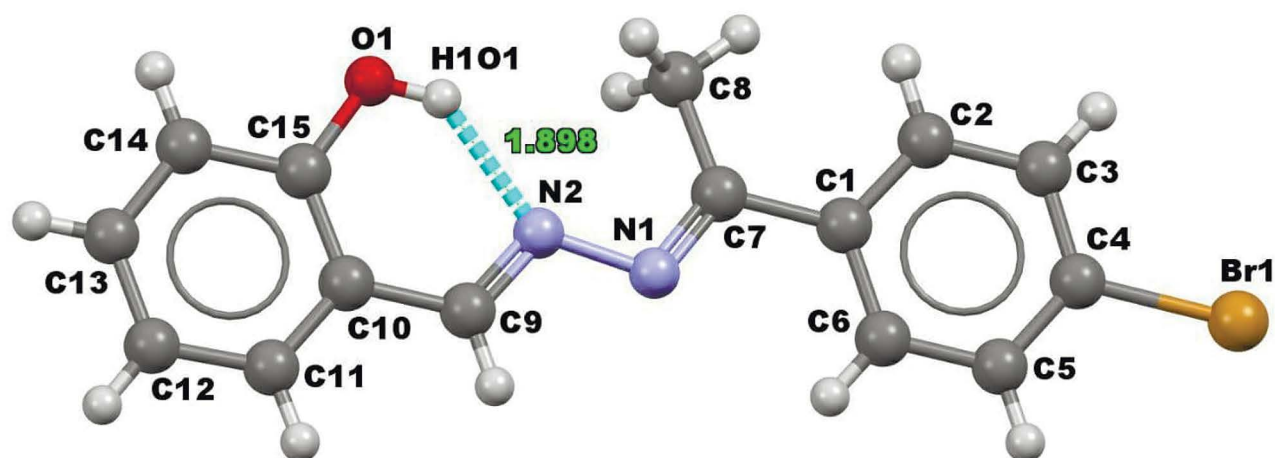


Схема 1. Синтез реагента.

Таблица 1. Кристаллографические данные и основные параметры для уточнения структуры реагента

Параметр	Значение
М	317.18
Температура, К	296(2)
Сингония	Моноклинная
Пространственная группа	$P2_1/c$
Параметры ячейки, Å	$a = 16.315(9)$, $b = 5.999(3)$, $c = 14.576(8)$
α , β , γ	$\alpha = 90^\circ$, $\beta = 107.410(16)^\circ$, $\gamma = 90^\circ$
V , Å ³	1361.2(12)
Z	4
ρ (выч.), г/см ³	1.548
μ , мм ⁻¹	3.013
$F(000)$	640
Пределы h , k , l	$-23 \leq h \leq 22$, $-7 \leq k \leq 7$, $-20 \leq l \leq 20$
Размер кристалла, мм	$0.180 \times 0.160 \times 0.160$
Общее числа отражений	16436
Число независимых отражений	0
Число отражений ($I > 2\sigma(I)$)	3328
Число уточняемых параметров	209
R -фактор ($I > 2\sigma(I)$)	$R_1 = 0.1087$, $wR2 = 0.2485$
R -фактор (по всем отражениям)	$R_1 = 0.1596$, $wR2 = 0.2689$
GOOF по F^2	1.015
$\Delta\rho_{\max}/\Delta\rho_{\min}$, $e \text{ Å}^{-3}$	0.906/-0.711

**Рис. 1.** Молекулярная структура реагента с внутримолекулярной водородной связью.

Растворы и реагенты. Для изучения комплексообразования использовали 2×10^{-3} М этанольный раствор реагента, 0.01 М водно-этанольные растворы диантипирилметана (ДАМ), диантипирилфенилметана (ДАФМ) и диантипирилпропилметана (ДАПМ). Стандартный

0.01 М раствор железа(III) готовили растворением рассчитанной навески металлического железа ч. д. а. в HCl (1 : 1) с добавлением HNO₃ по методике [12]. Рабочие растворы с меньшим содержанием железа(III) готовили разбавлением исходного раствора дистиллированной во-

дой. Для создания необходимых значений pH применяли фиксаналы HCl (pH 1–2) и аммиачно-ацетатные буферные растворы (pH 3–11). Величину pH растворов контролировали с помощью иономера И-130 со стеклянным электродом. Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре Lambda 40 (Perkin Elmer) и фотоколориметре КФК-2 в кювете с толщиной поглощающего свет слоя $l = 1$ см.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Железо(III) образует окрашенные комплексы с реагентом R в присутствии ДАМ, ДАФМ и ДАПМ. Из рис. 2 видно, что оптимальное значение pH образования бинарного комплекса железа(III) с реагентом R равно 5. При образовании смешаннолигандных комплексов оптимальное значение pH комплексообразования смещается в более кислую область и составляет: pH 3 для Fe(III)–R–ДАПМ, pH 4 для Fe(III)–R–ДАМ и pH 3 для Fe(III)–R–ДАФМ.

Спектры светопоглощения комплексов в присутствии и в отсутствие ДАМ, ДАПМ и ДАФМ приведены на рис. 3. Максимальное светопоглощение бинарного комплекса с железом(III) наблюдается при 464 нм (кривая 1). При введении ДАМ, ДАПМ и ДАФМ образуются смешаннолигандные комплексы Fe(III)–R–ДАМ, Fe(III)–R–ДАФМ, Fe(III)–R–ДАПМ. Из рис. 3 видно, что при образовании смешаннолигандных комплексов происходит гипсохромный сдвиг по сравнению со спектром бинарного комплекса. Светопоглощение комплексов Fe(III)–R–ДАМ, Fe(III)–R–ДАФМ и Fe(III)–R–ДАПМ максимально при 376 нм, 393 нм и 387 нм соответственно (кривые 2–4). Это свидетельствует о том, что в исследуемых системах имеет место взаимодействие реагент–третий компонент.

Влияние концентрации реагента и третьих компонентов на комплексообразование иллюстрирует рис. 4.

Из зависимостей оптической плотности бинарных и смешаннолигандных комплексов железа(III) с реагентом R от времени и температуры следует, что все комплексы образуются мгновенно после смешения компонентов при лабораторных условиях, трехкомпонентные комплексы более стабильны, чем бинарные комплексы. Бинарный комплекс Fe(III)–R устойчив в течение 24 ч при нагревании до 60°C, а смешаннолигандные комплексы Fe(III)–R–ДАПМ, Fe(III)–R–ДАМ и Fe(III)–R–ДАФМ – в течение 48 ч при нагревании до 80°C.

Соотношение компонентов в комплексах устанавливали методами изомолярных серий, относительного выхода Старика–Барбанеля и сдвига равновесия [13]. Все эксперименты

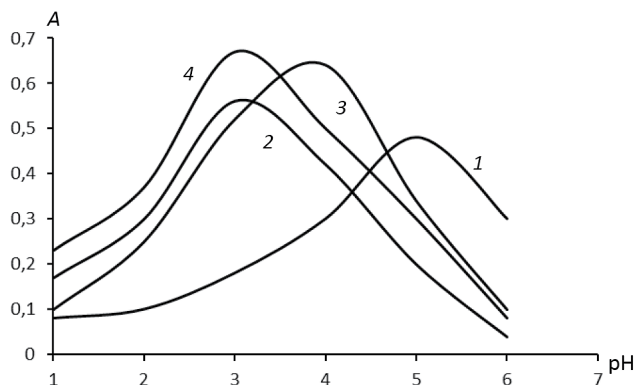


Рис. 2. Зависимость оптической плотности растворов комплексов железа(III) от pH при $\lambda_{\text{опт}}$. 1 – Fe(III)–R, 2 – Fe(III)–R–ДАПМ, 3 – Fe(III)–R–ДАМ, 4 – Fe(III)–R–ДАФМ. $c_{\text{Fe}} = 4 \times 10^{-5}$ М; $c_{\text{R}} = 0.002$ М; $c_{\text{ДАМ, ДАФМ, ДАПМ}} = 0.01$; $\lambda_{\text{опт}} = 490$ нм (Fe(III)–R), $\lambda_{\text{опт}} = 400$ нм (Fe(III)–R–ДАПМ, Fe(III)–R–ДАМ, Fe(III)–R–ДАФМ); КФК-2; $l = 1$ см.

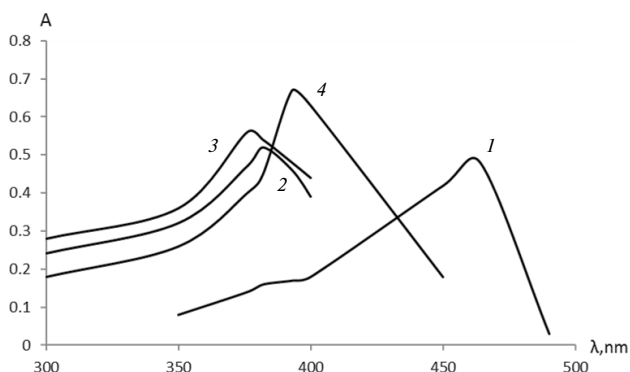


Рис. 3. Спектры светопоглощения комплексов железа(III) с R в присутствии третьих компонентов. 1 – Fe(III)–R, 2 – Fe(III)–R–ДАПМ, 3 – Fe(III)–R–ДАМ, 4 – Fe(III)–R–ДАФМ; Lambda-40.

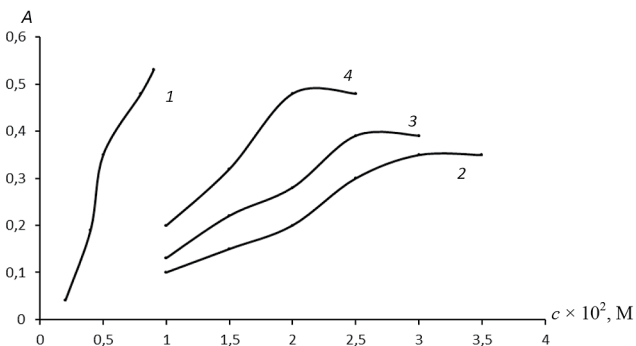


Рис. 4. Влияние концентрации реагента и третьего компонента на комплексообразование. 1 – R, 2 – Fe(III)–R–ДАПМ, 3 – Fe(III)–R–ДАМ, 4 – Fe(III)–R–ДАФМ. $c_{\text{Fe}} = 4 \times 10^{-5}$ М, pH 5, 3, 4, 3 соответственно; $c_{\text{R}} = 0.002$ М; $c_{\text{ДАМ, ДАФМ, ДАПМ}} = 0.01$ М; $\lambda_{\text{опт}} = 490$ нм (Fe(III)–R), $\lambda_{\text{опт}} = 400$ нм (Fe(III)–R–ДАПМ, Fe(III)–R–ДАМ, Fe(III)–R–ДАФМ); КФК-2; $l = 1$ см.

показали, что соотношение компонентов в бинарных комплексах Fe(III)–R равно 1 : 2, а в смешаннолигандных комплексах Fe(III)–R–ДАПМ, Fe(III)–R–ДАМ и Fe(III)–R–ДАФМ оно составляет 1 : 1 : 2, 1 : 2 : 1 и 1 : 1 : 1 соответственно. Молярные коэффициенты светопоглощения комплексов вычисляли из кривых насыщения. Установили интервалы концентраций, в которых соблюдается закон Бера (табл. 2).

Изучено влияние посторонних ионов и маскирующих веществ на фотометрическое определение железа(III) в виде бинарного и смешанно-

лигандного комплексов. Сравнительные данные по селективности систем приведены в табл. 3. Установлено, что в присутствии ДАМ, ДАПМ и ДАФМ повышается селективность реакции. Данные по селективности дают возможность применить разработанную методику для фотометрического определения микроколичеств железа(III) в виде смешаннолигандных комплексов в сложных объектах.

Разработанную методику применили для определения микроколичеств железа в нефтяных шламах.

Таблица 2. Основные спектрофотометрические характеристики комплексов железа(III)

Комплекс	pH	λ_{max} , нм	ϵ_{max} , л/(моль·см),	Состав комплексов	Диапазон подчинения закону Бера, мкг/мл
Fe(III)–R	5	464	12500	1 : 2	0.448–1.792
Fe(III)–R–ДАМ	4	376	16250	1 : 2 : 1	0.179–2.24
Fe(III)–R–ДАФМ	3	393	18000	1 : 1 : 1	1.64–3.14
Fe(III)–R4–ДАПМ	3	387	13000	1 : 1 : 2	0.112–2.24
Fe(III)–1-этокси-2-2-(гидрокси-3-сульфо-5-нитрофенилазо)бутан-1,3дион [14]	1–4	370	8700	1 : 2	0.22–2.24

Таблица 3. Допустимые молярные соотношения посторонних ионов (веществ) и железа(III) при его определении в виде однородно- и смешаннолигандных комплексов (погрешность 5%)

Посторонние ионы и маскирующие агенты	Fe–R–ДАМ	Fe–R–ДАПМ	Fe–R–ДАФМ	2,6-Димеркапто-4-метилфенол-батофенантралин [15]
Щелочные металлы	*	*	*	*
Щелочноземельные металлы	*	*	*	*
Ni(II)	*	*	*	50
Co(II)	*	*	*	50
Zn(II)	*	*	*	
Mn(II)	*	*	*	40
Cu(II)	*	*	*	20
Cd(II)	*	*	*	200
Al(III)	2410	2410	2710	200
Bi(III)	112	185	160	100
MoO ₄ ^{2–}	857	857	925	15
WO ₄ ^{2–}	1642	980	1660	25
Лимонная кислота	250	250	250	
Винная кислота	245	980	980	
Мочевина				

Примечание: селективность оценивали при концентрации железа(III) 0.001 М.

*Не мешает.

Методика анализа. Отбирали пять различных проб нефтешлама. Анализ проводили по следующей методике: 2 г пробы нагревали в графитовой чаше при 105°C, затем сжигали в муфельной печи при 550–650°C и полученную золу растворяли в смеси 8 мл 0.1 М HF + 3 мл 0.1 М HCl + 1 мл 0.1 М HNO₃. Полученную смесь обрабатывали 3–4 мл 0.1 М HNO₃ при 50–60°C до полного удаления HF. Затем осадок растворяли в дистиллированной воде, переносили в колбу емк. 100 мл и разбавляли до метки дистиллированной водой. Аликвоту полученного раствора переносили в мерную колбу емк. 25 мл, добавляли 2 мл 0.002 М раствора R и 0.6 мл 0.01 М раствора ДАФМ и разбавляли до метки буферным раствором. Оптическую плотность раствора измеряли на КФК-2 при $\lambda_{\text{опт}} = 400$ нм относительно раствора контрольного опыта. Количество железа(III) в образце определяли по градуированному графику [16].

Полученные по предложенной методике результаты представлены в табл. 4 и сопоставлены с данными анализа атомно-абсорбционным методом (ААС). Как видно, результаты хорошо согласуются между собой. Таким образом, предложенная методика определения железа(III) в виде комплекса с 2-(((1-(3-бромфенил)этилиден)гидразоно)метил)фенолом в присутствии ДАФМ проста, экспрессна и дает надежные результаты.

Таблица 4. Результаты (%) определения железа(III) в нефтешламах (n = 5, P = 0.95)

Образец	Фотометрический метод	AAS-1N
1	0.013 ± 0.003	0.014 ± 0.002
2	0.011 ± 0.005	0.010 ± 0.003
3	0.016 ± 0.002	0.016 ± 0.002
4	0.017 ± 0.001	0.016 ± 0.002

* * *

Известно, что для определения железа существует множество распространенных и дешевых реагентов, таких как роданид, сульфосалициловая кислота, но они имеют ряд недостатков. Так, сульфосалициловая кислота образует комплекс с железом(III) при pH 1.8–2.5 ($\lambda = 510$ нм), при определении железа мешают Ca, Mg, Cu, Co, Ni и др., т.е. избирательность сульфосалициловой кислоты ниже по сравнению с предложенным реагентом. Комплексы роданида с железом(III) малоустойчивы, при определении железа(III) мешают Mo, W, Co. Предложенный реагент характеризуется достаточно высокой устойчивостью — бинарный комплекс Fe(III)—R устойчив

в течение 24 ч при нагревании до 60°C, а смешаннолигандные комплексы Fe(III)—R—ДАПМ, Fe(III)—R—ДАМ и Fe(III)—R—ДАФМ — в течение 48 ч при нагревании до 80°C. Таким образом, с использованием предложенного реагента можно создавать чувствительные и селективные фотометрические методики определения железа(III) в различных промышленных и природных объектах.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Бакинского государственного университета. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Умланд Ф., Янсен А., Тириг Д., Вюнш Г. Комплексные соединения в аналитической химии. М.: Мир, 1975. 531 с.
2. Алиева Р.А., Чырагов Ф.М., Махмудов К.Т. Определение констант диссоциации новых сульфоарилазопроизводных ацетилацетона и констант устойчивости их комплексов // Журн. неорг. химии. 2004. Т. 49. № 7. С. 1210.
3. Jamaluddin A.M., Tasnima Z.A. Simple spectrophotometric method for the determination of copper in some real, environmental, biological, food and soil samples using salicylaldehyde benzoyl hydrazone // Pak. J. Anal. Environ. Chem. 2012. V. 13. № 1. P. 22.
4. Kareem E.K., Sajid M.L., Abid A.D. Synthesis and characterization of some transition metal complexes with new Schiff base ligand derivative from isatin // J. Kufa Chem. Sci. 2015. V. 1. № 10. P. 74.
5. Parikh K.S., Patel R.M., Patel K.N. 2-Hydroxy-4-n-butoxy-5-bromopropiophenone thiosemicarbazone as spectrophotometric reagent for iron // Asian J. Chem. 2010. V. 22. № 4. P. 2805.
6. Subbanaika M., Salman K., Akheel A.S. 4-Aminoantipyrine as a new electrophilic coupling reagent for spectrophotometric determination of iron(III) in water, industrial effluent and soil samples // Sci. Asia. 2007. V. 33. № 4. P. 455.
7. Lutfullah Sharma S., Rahman N.S., Azmi N.H., Hidaifi H.J.S., Qasimi M.M.. Spectrophotometric determination of Fe(III) via complexation with piroxicam in synthetic mixture and soil samples // J. Sci. Ind. Res. 2010. V. 69. P. 135.
8. Бусев А.И. Синтез новых органических реагентов для неорганического анализа. М.: Изд-во МГУ, 1972. 245 с.

9. *Sheldrick G.M.* SADABS. V. 2.03. Bruker AXS. Madison, Wisconsin, USA, 2003.
10. *Sheldrick G.M.* SHELXTL. V. 6.12. Structure Determination Software Suite. Bruker AXS, Madison, Wisconsin, USA, 2001
11. *Gawinecki R., Kolehmainen E., Janota H., Kauppinen R., Nissinen M., Osmialowski B.* Predominance of 2-arylhydrazones of 1,3-diphenylpropane-1,2,3-trione over its proton-transfer products // *J. Phys. Org. Chem.* 2001. V. 14. № 11. P. 797.
12. *Коростелев П.П.* Приготовление растворов для химико-аналитических работ. М.: Химия, 1964. С. 386.
13. *Булатов М.И., Калинин И.П.* Практическое руководство по фотометрическим и спектрофотометрическим методам анализа. Л.: Химия, 1972. 407 с.
14. *Алиева Р.А., Пашаев Ф.Г., Гасанов А.Г., Махмудов К.Е.* Квантово-химические расчеты таутомерных форм азопроизводных этилацетоацетата и их применение для фотометрического определения железа (III) // Методы и объекты химического анализа. 2008. Т. 3. № 2. С. 167.
15. *Кулиев К.А.* Димеркаптофенолы как аналитические реагенты для экстракционно-фотометрического определения железа(III) // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2017. Т. 83. № 3. С. 17.
16. *Гаджиева С.Р., Мамедова Ч.А., Шихалиев Н.Г., Чырагов Ф.М.* Исследование комплексообразования железа(III) с 2-(((1-(3-бромфенил)этилиден)гидрозоно) метил)фенолом / XXXI Российская молодежная научная конференция с международным участием “Проблемы теоретической и экспериментальной химии”, посвященная 90-летию проф. В.М. Жуковского. Екатеринбург, 2021. С. 98.

ORIGINAL ARTICLES

STRUCTURE OF 2-(((1-(3-BROMOPHENYL)ETHYLIDENE)HYDRAZONO)METHYL)PHENOL AND ITS APPLICATION IN THE SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF IRON(III)

Ch. A. Mamedova ^{a,*}, S. R. Gadzhieva ^a, F. S. Alieva ^a, F. M. Chyragov ^a

^a*Baku State University, Faculty of Chemistry, Az 1148 Baku, Azerbaijan*

^{*}*E-mail: chinara.mamedova.86@mail.ru*

Abstract. A new reagent based on salicylaldehyde was synthesized, its crystalline structure determined, and the complex formation of this reagent with iron(III) was studied by the spectrophotometric method. The crystalline structure of the reagent was established using X-ray structural analysis. The dissociation constant of the reagent in a water-ethanol medium was determined potentiometrically: $pK = 9.66 \pm 0.02$. The interaction of iron(III) with 2-(((1-(3-bromophenyl)ethylidene)hydrazono)methyl)phenol was studied in the presence and absence of diantipyrylmethane (DAM), diantipyrylphenylmethane (DAFPM), and diantipyrylpropylmethane (DAPM). Optimal conditions for complex formation (λ_{opt} , pH_{opt}) were found. It was established that iron(III) forms colored mixed-ligand complexes with the reagent in the presence of the third components – DAM, DAFPM, and DAPM, with a hypsochromic shift observed in the absorption spectrum. The maximum yield of complexes was achieved in a more acidic medium compared to the binary complex. The molar absorption coefficients of the complexes and their compliance with Beer's law were determined. The component ratios in the homogeneous and mixed-ligand complexes were established by the isomolar series method, the relative yield method of Starik-Barbanel, and the equilibrium shift method. All methods showed that the Fe(III)–R component ratio in the binary complex is 1:2, while in the mixed-ligand complexes Fe(III)–R–DAM, Fe(III)–R–DAFPM, and Fe(III)–R–DAPM, the ratios are 1:2:1, 1:1:1, and 1:1:2, respectively. The mixed-ligand complexes of iron(III) with 2-(((1-(3-bromophenyl)ethylidene)hydrazono)methyl)phenol are characterized by good chemical-analytical properties. The developed method was applied for determining trace amounts of iron(III) in oil sludge.

Keywords: structure of complex compounds, X-ray structural analysis, spectrophotometric method, iron(III) complex formation, salicylaldehyde, mixed-ligand complexes, diantipyrylmethane, diantipyrylphenylmethane, diantipyrylpropylmethane.

УДК 543.51

ТЕРМОДИНАМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ СОСТАВА ОСНОВНЫХ ФОНОВЫХ ИОНОВ В НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ (“ХОЛОДНОЙ”) ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМЕ

© 2024 г. А. А. Пупышев^{a, *}, П. В. Зайцева^{a, b}, М. Ю. Бурыйлин^c, М. А. Мальцев^{d, e},
И. В. Морозов^{d, e}, Е. Л. Осина^d

^aУральский федеральный университет

ул. Мира, 19, 620066, Екатеринбург, Россия

^bИнститут металлургии Уральского отделения Российской академии наук

ул. Амундсена, 101, 620016, Екатеринбург, Россия

^cКубанский государственный университет

ул. Ставропольская, 149, 350040, Краснодар, Россия

^dОбъединенный институт высоких температур Российской академии наук

ул. Ижорская, 13, стр. 2, 125412, Москва, Россия

^eМосковский физико-технический институт

Институтский пер., 9, Московская обл., 141701, Долгопрудный, Россия

Рассмотрена возможность изучения методом термодинамического моделирования проявления основных фоновых ионов, образованных главными элементами индуктивно связанной плазмы (Н, N, O и Ar) в режиме низкотемпературной (“холодной”) плазмы. Такие ионы, создающие серьезные спектральные помехи, всегда наблюдаются при вводе в масс-спектрометры с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП) водных растворов проб. Методом термодинамического моделирования в диапазоне от 2000 до 5000 К рассчитан количественный состав основных фоновых ионов в МС-ИСП в зависимости от температуры плазмы. Проведено его сравнение с экспериментальными данными измерений масс-спектров основных фоновых ионов и показана высокая степень корреляции между теоретическими и экспериментальными результатами. Совпадение расчетов и экспериментов подтверждает правильность использованной термодинамической модели термохимических процессов в МС-ИСП и ее применимость для последующих расчетов при решении аналитических задач. Предложен прием однозначной оценки газокинетической температуры плазмы с одновременным учетом практически всех основных фоновых ионов.

Ключевые слова: масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, режим “холодной” плазмы, основные фоновые ионы, операционные параметры прибора, газокинетическая температура плазмы, термодинамическое моделирование, аргидные ионы.

DOI: 10.31857/S0044450224080049, EDN: tjniiy

Изучение термохимических процессов, протекающих в источниках ионов и источниках возбуждения атомных и молекулярных спектров (спектральные источники), а также исследование влияния операционных параметров этих устройств на их аналитические характеристики необходимо для объяснения и изучения наблюдаемых экспериментально явлений, прогнозирования и достижения оптимальных условий масс-спектрального и эмиссионного спектрального анализа. Обычно решение этих задач требует выполнения большого объема дополнительных экспериментальных работ. Однако затраты труда, времени, расходных материалов и средств

можно значительно снизить, а информационный результат существенно улучшить, если подобные исследования проводить теоретически с использованием различных приемов моделирования. Это позволяет всесторонне объяснять наблюдаемые явления, лучше понимать процессы в низкотемпературной плазме спектральных источников и проводить разнообразные прогнозные качественные и количественные оценки, ориентированные на решение конкретных аналитических задач [1].

Наиболее быстрым и информативным способом получения сведений о термохимическом поведении различных элементов, возможности

образования их молекулярных и ионных соединений в многокомпонентных гетерогенных высокотемпературных системах, к которым относятся спектральные источники, является, по нашему мнению, метод равновесного термодинамического моделирования [2]. Он заключается в анализе термохимического поведения таких систем, базирующемся на расчете их полного равновесного химического состава. Расчет проводится на основании известного исходного химического состава систем с использованием их некоторых физических параметров (например, давления и температуры) и учетом большинства потенциально возможных в равновесии нейтральных и заряженных атомных и молекулярных компонентов.

Для расчетов квазиравновесного состава термодинамической системы плазменного спектрального источника требуется [1] надежный алгоритм моделирования, задание давления (обычно оно точно известно), температуры (известной или предполагаемой), полного (основного и примесного) исходного качественного и количественного ее химического состава. Расчеты основаны на максимизации энтропии или минимизации энергии Гиббса всей системы с применением обширных банков термодинамических свойств всех учитываемых в расчетах индивидуальных веществ (нейтральных и заряженных). Используемые в расчетах основные справочные термодинамические функции (энтропия, энтальпия, теплоемкость, энергия Гиббса) газообразных индивидуальных веществ (атомов, молекул, атомных и молекулярных ионов) точно определяются через их температурные зависимости статистических сумм по состояниям.

Индуктивно связанная плазма (ИСП) в настоящее время успешно и очень широко применяется как спектральный источник для элементного анализа методом атомно-эмиссионной спектроскопии, элементного и изотопного анализа методом масс-спектрометрии (МС-ИСП). Ранее в серии работ [3–6] была предложена, обоснована и разработана многокомпонентная квазиравновесная термодинамическая модель ИСП, применяемой в атомном спектральном анализе, для практического изучения и прогнозирования ее поведения при вариации операционных параметров. При расчете равновесного химического состава ИСП, реализуемой с трехпоточковой плазменной горелкой, для термодинамической модели МС-ИСП в итоге были приняты следующие основные допущения [1]:

- рассматривается только центральная (аналитическая) зона на оси разряда, в которую транспортирующим потоком аргона (или другого газа) вводится аэрозоль анализируемой пробы и из которой идет отбор плазмы в интерфейс масс-спектрометра;

- в аналитической зоне выполняются условия локального термодинамического равновесия (квазиравновесное состояние);

- исходные компоненты модельной квазиравновесной термодинамической системы равномерно распределены по объему аналитической зоны;

- в аналитической зоне аэрозоль пробы полностью испаряется;

- плазма находится под внешним давлением 0.1013 МПа;

- в различных участках аналитической зоны могут реализовываться разные температуры плазмы, определяемые операционными условиями анализа и конструкцией горелки (продольная неизотермичность факела плазмы);

- исходный состав термодинамической системы (рабочего тела) определяется из соотношения массовых скоростей (г/мин) введения составляющих плазмы в горелку (аргон или другой транспортирующий газ и аэрозоль анализируемого раствора, содержащий растворитель, кислоты, матричные и примесные компоненты пробы);

- отсутствует смешивание центрального транспортирующего аэрозоль потока газа с другими потоками аргона в трехпоточковой плазменной горелке;

- компоненты окружающего воздуха в аналитическую зону факела плазмы не попадают;

- введение матричных элементов пробы изменяет температуру плазмы незначительно;

- степень двухкратной ионизации атомов принимается значимой только для элементов с самыми низкими вторыми потенциалами ионизации их атомов;

- экстракция ионов из плазмы разряда в интерфейс, ионную оптику и регистрирующую систему масс-спектрометра дает представительную пробу ионов изучаемой аналитической зоны факела плазмы (регулируется расстоянием между индуктором и отверстием пробоотборного конуса интерфейса).

Неоднократно проверенная по многим экспериментальным данным термодинамическая модель [1] МС-ИСП обеспечивает возможность вычисления при различной температуре полного равновесного химического состава плазмы, попадающей в интерфейс прибора. Модель учитывает различия в исходном качественном и количественном химическом составе термодинамических систем, реализуемых в МС-ИСП: любые типы и расходы транспортирующего газа, растворителя (в том числе кислотный состав пробы), матричных, определяемых и сопутствующих элементов анализируемых образцов, наличие различных температурных зон вдоль факела плазмы.

Уже первоначальное применение модели [3] показало ее достаточно широкие возможности по расчету концентрации электронов и степени ионизации атомов аналитов при любом элементном составе плазмы, варьировании температуры (мощности разряда), расходов транспортирующего потока аргона и скорости подачи аэрозоля. По результатам данных расчетов, а также термодинамического моделирования ионизационных помех [4] подтверждена правомерность применения предложенной модели для исследования аналитических характеристик ИСП и предложен унифицированный расчетный режим (алгоритм расчета).

В работе [7] с помощью данной модели рассмотрены различные термодинамические системы аргон–вода–аналит–матричный элемент (Mt), реализуемые в методе МС-ИСП в температурном диапазоне 6000–8000 К. Одновременно изучено термохимическое поведение аналитов и/или матриц с близкими первыми потенциалами ионизации атомов и резко различными атомными массами или с близкими атомными массами, но существенно различными первыми потенциалами ионизации. Рассчитаны изменения парциальных давлений ионов аналитов в зависимости от температуры в присутствии различных количеств матричных элементов в плазме, а также парциальных давлений основных ионов, определяющих ионный ток (Ar^+ , H^+ , O^+ , Mt^+) в МС-ИСП. Это дало возможность, кроме моделирования условий образования ионов аналитов в ИСП, рассчитать и возможное снижение сигнала аналитов из-за эффектов, возникающих при транспортировке ионов в ионном пучке после интерфейса (кулоновское расталкивание ионов). Установлены основные закономерности матричных неспектральных помех за счет процессов в плазме и в ионном пучке. Показана высокая степень совпадения экспериментальных и расчетных результатов.

В работе [5] с помощью данной модели рассчитана эффективность ионизации атомов 75 элементов в аргонной ИСП для реальных исходных составов плазм и сделан вывод, что эти результаты полезны для повышения точности многоэлементного полуколичественного анализа методом ИСП. Показана возможность проведения моделирования термохимических процессов в гелиевой МС-ИСП.

В работе [8] для реальных составов плазм выполнено термодинамическое моделирование образования в аргонной ИСП дважды заряженных атомных ионов M^{2+} (или M^{++}), что приводит к некоторому повышению пределов обнаружения элементов по однозарядным атомным ионам и вносит серьезные спектральные помехи. Установлено, что эффективность образования дважды заряженных ионов однозначно определяется вто-

рым потенциалом ионизации атомов аналитов. Рассчитаны эффективности образования атомных ионов M^{2+} многих элементов Периодической системы при различных температурах ИСП.

Эффективность образования отрицательных основных фоновых ионов и ионов F^- , Cl^- , Br^- и I^- в ИСП изучена в работе [9] с использованием термодинамического моделирования при температурах от 4000 до 9000 К. Показано, что основными отрицательными фоновыми ионами в ИСП являются O^- , H^- , OH^- и, вероятно, Ar^- , что соответствует эксперименту. Расчетная общая концентрация отрицательных ионов в ИСП составляет величины, на четыре-пять порядков меньшие, чем для положительных ионов. Наибольшая эффективность образования отрицательных ионов должна наблюдаться для элементов, имеющих высокое сродство к электрону.

Таким образом, основное внимание при термодинамическом моделировании термохимических процессов в ИСП ранее уделялось поведению ионов аналитов и матричных элементов при различных операционных параметрах разряда. Однако в квазиравновесной плазме при постоянном ионно-молекулярном взаимодействии данные ионы существуют совместно со всеми фоновыми ионами ИСП, содержание которых в плазме на много порядков больше, чем ионов аналитов и матричных компонентов пробы [1]. Фоновые ионы образуются главными элементами рабочего газа, воды, кислот и воздуха (чаще всего H , C , N , O и Ar) при вводе в факел плазмы водного (“влажного”) аэрозоля и имеют наиболее высокую интенсивность в любых масс-спектрах аналитической МС-ИСП. В связи с этим правильность полученных результатов термодинамического моделирования и точность полученных практических аналитических оценок может быть существенно улучшена, если станет возможно теоретически определять и количественный состав основных фоновых ионов, образующихся в ИСП в наибольших концентрациях и проявляющихся в спектрах МС-ИСП максимальной интенсивностью ионных пиков.

Первая попытка моделирования состава основных фоновых ионов в приложении к методу МС-ИСП выполнена в работе [10], где метод термодинамического моделирования впервые использован для изучения состава низкотемпературной (“холодной”) ИСП и процесса транспорта ионов в ней. Равновесный химический состав ИСП рассчитан для температурного диапазона 2500–4500 К по экспериментальным данным [11]. Согласно расчетам, соотношения концентраций (см^{-3}) ионов NO^+ , O_2^+ , H_3O^+ , H_2O^+ , OH^+ , O^+ и Ar^+ качественно соответствуют соотношению экспериментальных интенсивностей (импульс/с) данных ионов, наблюдаемых в масс-спектрах “холодной” плазмы МС-ИСП для диапазона расчетных

плазменных температур 2750–3500 К. Расчетами подтверждено снижение полного ионного сигнала ИСП на два-три порядка величины по сравнению с условиями нормальной (“горячей”) плазмы. Теоретически определены отношения парциальных давлений O^+/H_2O^+ , OH^+/H_2O^+ , H_3O^+/H_2O^+ , NO^+/NO_2^+ , которые позволяют оценивать газокинетическую температуру плазмы по экспериментальным интенсивностям этих пар ионов.

Такой способ оценки газокинетической температуры плазмы базируется [12–14] на измерении экспериментального отношения концентраций пары указанных выше или других ионов, расчете экспериментальной температурной константы равновесия соответствующей термохимической реакции, в которой они участвуют, и сопоставлении с теоретическими значениями константы, рассчитанными для разных температур по фундаментальным молекулярным и атомным статистическим данным. Например, экспериментальная температурная константа равновесия $K_T(NO_2^+)$ для реакции диссоциации $NO_2^+ = NO^+ + O$ составляет

$$K_T(NO_2^+) = [NO^+] \cdot [O] / [NO_2^+],$$

где $[NO^+]$, $[O]$ и $[NO_2^+]$ – равновесные концентрации компонентов в плазме разряда при температуре T . Отношение концентраций $[NO^+]/[NO_2^+]$ можно определить экспериментально, исходя из соотношения ионных сигналов данных компонентов, приняв с большой долей вероятности, что оно соответствует отношению концентраций этих ионов в плазме разряда. Концентрацию атомарного кислорода можно косвенно рассчитать по количеству воды, попавшей из водного аэрозоля в плазму разряда [14].

Для метода МС-ИСП этот прием уже использовали неоднократно, например [12–14]. К сожалению, газокинетические температуры плазмы, определенные подобным способом, существенно различаются для разных пар ионов. Так, например, для конкретных операционных условий “холодной” плазмы с использованием ионных пар ArO^+/O^+ , Ar_2^+/Ar^+ , ArN^+/N^+ , OH^+/O^+ , H_2O^+/OH^+ , H_3O^+/H_2O^+ , ArH^+/Ar^+ , O_2^+/O^+ и NO^+/N^+ в работе [14] определен температурный диапазон от 1040 К (ArO^+/O^+) до 4050 К (NO^+/N^+). Конечно, такой способ определения газокинетической температуры плазмы можно признать лишь грубой и неоднозначной ее оценкой, хотя он достаточно часто применяется на практике.

Большие расхождения газокинетических температур плазмы, найденных подобным способом, связаны, с одной стороны, с погрешностями определения реальных концентраций ионов плазмы (спектральные помехи, дискриминация ионов по массе), приблизительными оценками концентраций нейтральных частиц по косвен-

ным данным и, главное, с тем, что эффективность образования разных типов ионов различна даже в соседних осевых участках плазмы (продольная неизотермичность), одновременно попадающих в интерфейс прибора МС-ИСП. С другой стороны, в таких оценках газокинетической температуры плазмы рассматривается только одна из множества возможных в ИСП ионно-молекулярных реакций. Следовательно, необходимо создание подхода, не связанного в первую очередь с оценками концентраций частиц, прямо не измеряемых в МС-ИСП, а также с сопоставлением с теоретической константой равновесия отдельной ионно-молекулярной реакции. Во-вторых, этот подход должен при оценке газокинетической температуры и определении других физических свойств плазмы, учитывать одновременно большое число видов ионов, поступающих в интерфейс из различных участков плазмы и регистрируемых экспериментально прибором.

Количественно определить достоверность термодинамического моделирования для фонового ионного состава “холодной” ИСП в работе [10] не удалось, так как отсутствовала необходимая для проведения расчетов информация по термохимическим и термодинамическим свойствам ряда основных фоновых ионов и их прекурсоров в ИСП. Основными мы называем фоновые ионы ИСП, образованные главными элементами плазмы (H, N, O и Ar) и имеющие наиболее высокую интенсивность в ее масс-спектре: H^+ , H_2^+ , H_3^+ , N^{++} , O^{++} , N^+ , NH^+ , O^+ , NH_4^+ , OH^+ , H_2O^+ , H_3O^+ , Ar^{++} , N_2^+ , NO^+ , O_2^+ , Ar^+ , ArH^+ , N_2O^+ , NO_2^+ , ArN^+ , ArO^+ и Ar_2^+ . В масс-спектре ИСП присутствуют и другие фоновые ионы, например [15, 16]: C^{++} , C^+ , CH^+ , C_2^+ , C_2H^+ , $C_2H_2^+$, CN^+ , CNH^+ , $C_2H_3^+$, CO^+ , $C_2H_4^+$, N_2H^+ , COH^+ , $C_2H_5^+$, CH_3N^+ , $N_2H_2^+$, $CONH_2^+$, $C_2H_5^+$, CH_4N^+ , NOH^+ , NOH_2^+ , O_2H^+ , $O_2H_2^+$, $O_2H_3^+$, ArH_2^+ , N_3^+ , CO_2^+ , CO_2H^+ , N_2OH^+ , ArC^+ , $ArCH^+$, $ArOH^+$, ArN_2^+ , $ArNO^+$, $ArNOH^+$, $ArCNH^+$, $ArCO^+$, ArO_2^+ , ArO_2H^+ , Ar_2H^+ и др. Углеродсодержащие ионы, выделенные в этом списке курсивом, также относятся к основным фоновым ионам МС-ИСП и их присутствие в плазме (в случае изучения проб, содержащих органические компоненты) может быть учтено в расчетах термодинамического моделирования, поскольку необходимая термодинамическая информация по этим ионам имеется в базах данных программных комплексов моделирования. Остальные указанные в списке фоновые ионы имеют низкую интенсивность в масс-спектрах МС-ИСП, что связано с их малой концентрацией в плазме разряда. В связи с этим отсутствие учета этих ионов в расчетах термодинамического моделирования практически не скажется на равновесных концентрациях основных фоновых ионов, матричных ионов проб и ионов аналитов.

В работе [17], посвященной расширению возможностей термодинамического моделирования термохимических процессов в ИСП, сделан вывод о необходимости накопления информации о термодинамических характеристиках разнообразных газообразных полиатомных ионов, образуемых в ИСП. В первую очередь это касается оксидных, гидридных, гидроксидных, аргидных, карбидных, нитридных и галогенидных ионов, необходимая справочная термодинамическая информация по которым пока существенно ограничена. Включение этих индивидуальных веществ в теоретическую модель позволит повысить качественную и количественную точность термодинамического моделирования для метода МС-ИСП, надежно описывать термохимические процессы для различных режимов работы ИСП, прогнозировать и учитывать спектральные помехи полиатомных ионов, более точно оценивать температуру плазмы, расширить круг теоретически решаемых аналитических задач.

За последние годы описаны термодинамические свойства ряда основных фоновых ионов и их прекурсоров, которые могут образоваться в ИСП: Ar_2 и Ar_2^+ [18], ArH и ArH^+ [19], ArO и ArO^+ [20], ArN и ArN^+ [21]. Это позволило вернуться к термодинамическому моделированию основного фонового ионного состава низкотемпературной (“холодной”) ИСП с целью количественного сопоставления с экспериментальными данными, дальнейшей проверки работоспособности термодинамической модели МС-ИСП и расширения ее возможностей при изучении термохимических процессов в ИСП и решении практических аналитических задач.

ПРОВЕДЕНИЕ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Экспериментальные данные для проверки расчетов. Для проведения термодинамического моделирования за основу взяли экспериментальные данные работ [11, 22]. Статья [22] посвящена изучению ионизационного и матричного подавления сигналов аналитов в условиях “холодной” плазмы, что являлось важным для определения проблемных для метода МС-ИСП с точки зрения спектральных помех элементов Fe, Ca, K, Na и Li на уровне следов. Для создания условий “холодной” плазмы с помощью промышленного прибора Elan 6000 использовали высокочастотную мощность $W = 600$ Вт и скорость транспортирующего аэрозоль потока аргона $V_{\text{Ar}} = 1.08$ л/мин. Ввод пробы (0.1 мас. % азотной кислоты в деионизованной воде) осуществляли при комнатной температуре с помощью поперечно-поточного распылителя Gem-TipTM и стандартной коррозионно-устойчивой распылительной камеры двойного прохождения

RytonTM. Вторичный разряд постоянного потенциала факела плазмы на заземленный пробоотборный конус интерфейса (сэмплер) был конструктивно подавлен. При этих операционных условиях полный ионный сигнал был ниже примерно на три порядка, чем для условий нормальной плазмы ($W = 1200$ Вт, $V_{\text{Ar}} = 0.77$ л/мин) с доминированием в масс-спектре “холодной” ИСП ионов H_2O^+ , H_3O^+ , NO^+ и O_2^+ .

Работа [11] посвящена ионизационному и матричному подавлению сигналов аналитов (K, Ca, Fe) в условиях “холодной” плазмы в методе МС-ИСП с использованием той же приборной базы и при тех же операционных условиях анализа, как в работе [22]. Кроме того, авторы работы [11] варьировали исходное содержание азотной кислоты в анализируемом фоновом растворе в диапазоне 0.005–4 мас. %. В фоновом масс-спектре “холодной” ИСП интенсивность ионов H_2O^+ , H_3O^+ , NO^+ и O_2^+ была значительно выше, чем интенсивность других основных фоновых ионов (в условиях нормальной плазмы доминируют ионы O^+ , Ar^+ , ArH^+). Уровень ионизации в “холодной” плазме ниже на два-три порядка по сравнению с условиями нормальной плазмы (полный ионный сигнал 10^{10} относительно 4×10^7 импульс/с). Газокинетическая температура для условий “холодной” плазмы оценена как 1450 К. Эта температура, по мнению авторов работы [11], относится к плазме прямо на фронте апертуры пробоотбора, когда она экстрагируется через сэмплер.

В работах [11, 22] приведены фоновые масс-спектры “холодной” ИСП в диапазоне от 6 до 84 а. е. м., позволившие нам количественно оценить интенсивность основных фоновых ионов для последующего сравнения с концентрациями соответствующих ионов, полученных по результатам термодинамического моделирования. Кроме того, авторы работ [11, 22], изучив относительную чувствительность определения различных элементов (импульс/с)/(моль/л) пришли к заключению, что в условиях “холодной” плазмы она определяется фактически только первым потенциалом ионизации атомов этих элементов и не зависит от дискриминации ионов по массе (эффект mass bias). Это позволяет проводить прямое сравнение расчетных и экспериментальных зависимостей по концентрациям и интенсивностям ионов в плазме без корректировки на эффект дискриминации масс [23].

В качестве сравнительного эксперимента мы также использовали данные по основному фоновому масс-спектру МС-ИСП, приведенному в работе [24]. Данная работа посвящена определению Li, Na, Mg, K, Ca и Fe с использованием прибора PlasmaQuad II Turbo+ с защитой плазмы горелки от вторичного разряда в условиях “холодной” плазмы: потребляемая мощность 620 Вт, скорость транспортирующего потока

аргона 0.89 л/мин, V-образный распылитель (с канавкой), скорость подачи пробы 1 мл/мин, распылительная камера Scott двойного прохождения с охлаждением до 1°C. В этих операционных условиях анализа, максимально близких к использованным в работах [11, 22], авторами получен фоновый спектр ионов ИСП при введении воды. В работе [24] приведен основной фоновый спектр в диапазоне от 16 до 58 а. е. м.

Оцифровка нами фонового спектра из работы [24] и его сопоставление с фоновыми спектрами, полученными в работах [11, 22], показали, что интенсивности основных фоновых ионов в зависимости от соотношения массы к заряду иона m/z (сравнивали совпадающий диапазон данных от 16 до 41 а. е. м.), приведенные в этих работах, меняются практически синхронно (рис. 1). При этом коэффициент корреляции R между этими данными составляет 0.96. Такое высокое значение коэффициента R позволяет при сравнении расчетных и экспериментальных данных ориентироваться на любую из публикаций [11, 22, 24].

Проведение расчетов. В настоящей работе термодинамическое моделирование проводили с использованием программного комплекса Terga [25, 26] с базой термодинамических данных ИВТАНТЕРМО [27], в которую дополнительно вводили комплекты термодинамических свойств из работ [18–21]. Учитываемые в расчетах равновесия нейтральные и заряженные индивидуальные вещества приведены в табл. 1.

Исходный состав термодинамической системы, численно равный материальным потокам веществ, задан согласно работам [11, 22] и при-

Таблица 1. Учитываемые в расчетах термодинамического равновесия индивидуальные вещества

Нейтральные	Заряженные
	e^-
H, H ₂	H ⁺ , H ⁻ , H ₂ ⁺ , H ₃ ⁺
N, N ₂ , N ₃ , NH, NH ₂ , NH ₃ , N ₂ H ₂ , N ₂ H ₄ , HN ₃ , NO, NO ₂ , N ₂ O, N ₂ O ₃ , N ₂ O ₄ , N ₂ O ₅ , HNO, HNO ₂ , HNO ₃ , NH ₃ O, N ₂ H ₂ O ₂	N ⁺ , N ₂ ⁺ , NH ⁺ , NO ⁺ , NO ₂ ⁺ , NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻
O, O ₂ , O ₃	O ⁺ , O ⁻ , O ₂ ⁺ , O ₂ ⁻
OH, HO ₂ , H ₂ O, H ₂ O ₂	OH ⁺ , OH ⁻ , H ₂ O ⁺ , HO ₂ ⁻ , H ₃ O ⁺
Ar, Ar ₂ , ArH, ArN, ArO	Ar ⁺ , Ar ₂ ⁺ , Ar ⁺⁺ , ArH ⁺ , ArN ⁺ , ArO ⁺

веден в табл. 2. Количество аргона соответствует его транспортирующему потоку в плазменной горелке. Количество воды определяется скоростью ее ввода в распылитель и принятой эффективностью распылительной аэрозольной системы 2%. Количество азотной кислоты соответствует ее содержанию в фоновом растворе – 0.1 мас. %.

Расчеты для “холодной” плазмы проводили при атмосферном давлении 0.1 МПа в диапазоне от 2000 до 5000 К с шагом 500 К. Для сравнения также выполняли расчеты для нормальной плазмы (табл. 2) в диапазоне температур 5000–8000 К с шагом 500 К. По результатам расчетов получили зависимости концентраций всех индивидуальных веществ (см⁻³, т.е. число частиц в единице объема), учитываемых в расчетах, от температуры плазмы. Это позволяет проводить прямое сопоставление расчетных температурных концентрационных зависимостей для ионов с экспериментально измеренными интенсивностями соответствующих ионных пиков, поскольку ионный ток соответствует суммарному числу индивидуально зарегистрированных детектором единичных зарядов от каждого иона.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты термодинамических расчетов, проведенных для “холодной” и нормальной аргонной ИСП, приведены на рис. 2. Для условий “холодной” плазмы в температурном диапазоне 2000–3500 К прогнозируется значительное возрастание концентрации всех основных фоновых ионов с ростом температуры плазмы (рис. 2а), а максимальная концентрация ожидается для ионов H⁺, O⁺, OH⁺, H₂O⁺, H₃O⁺, NO⁺, O₂⁺ и ArH⁺. Это хорошо согласуется с данными экспериментальных работ [11, 22, 24] (но в этих работах нет

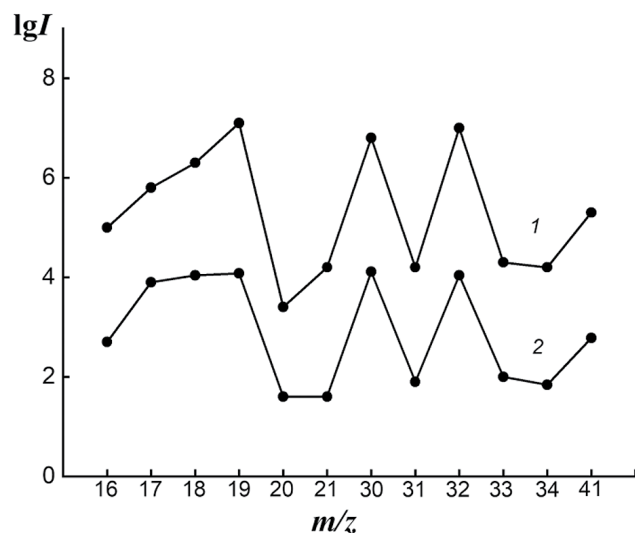


Рис. 1. Сопоставление логарифмов интенсивности lgI (импульс/с) основных фоновых ионов с различными соотношениями m/z для режима “холодной” плазмы в работах [11, 22] (1) и [24] (2).

Таблица 2. Исходный состав термодинамической расчетной системы

Исходный компонент	Массовая доля		Примечание
	“холодная” плазма	нормальная плазма	
Ar	1.928	1.375	Поток аргона в нормальной плазме 0.77 л/мин [11, 22]
H ₂ O	0.02	0.02	Выполнены также расчеты при варьировании массового соотношения Ar : H ₂ O от 120 до 40 и постоянном массовом соотношении H ₂ O : HNO ₃ 1000 : 1
HNO ₃	0.00002	0.00002	Выполнены также расчеты при варьировании массового соотношения H ₂ O : HNO ₃ от 10 000 до 25

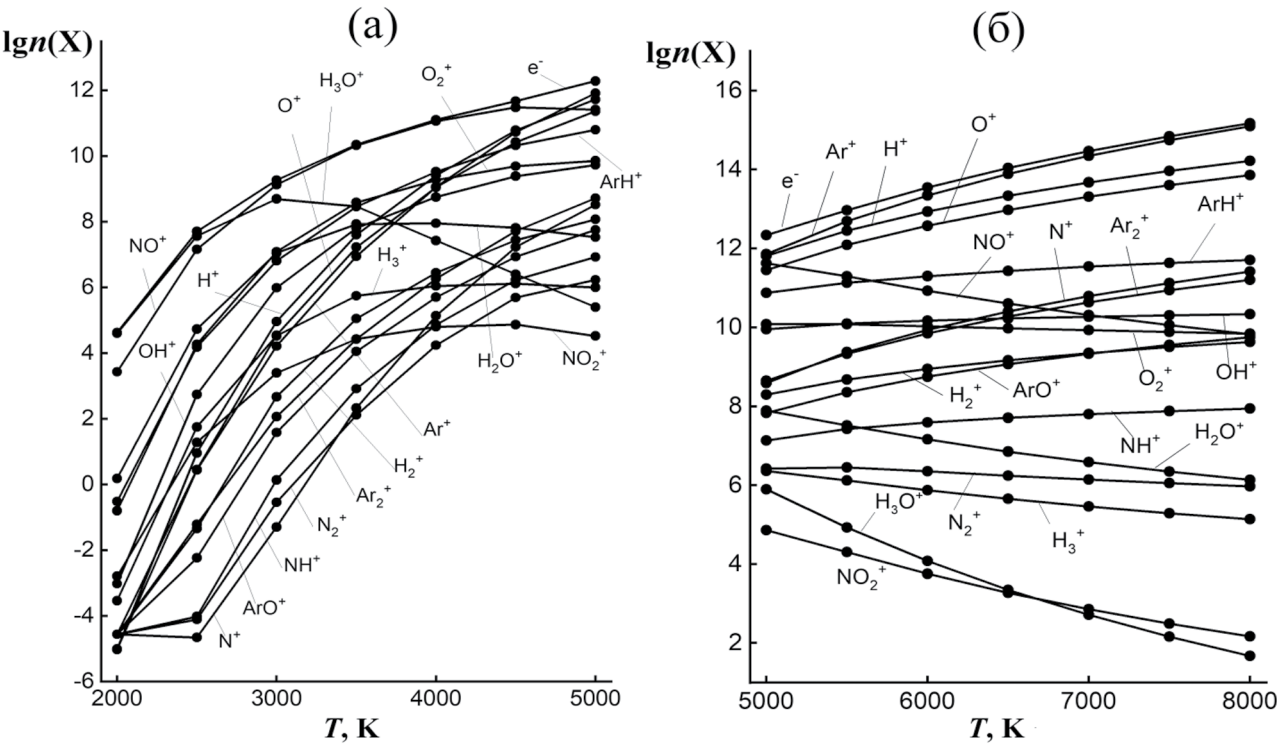


Рис. 2. Изменение расчетных логарифмов концентраций $\lg n(X)$ (см^{-3}) различных основных фоновых ионов X в зависимости от температуры T (K) для условий “холодной” (а) и нормальной (б) аргонной индуктивно связанной плазмы. Массовое соотношение $\text{Ar} : \text{H}_2\text{O} = 96 : 1$.

данных по H^+). При дальнейшем повышении температуры рост концентраций основных фоновых ионов замедляется, а концентрационные зависимости для H_2O^+ и H_3O^+ проходят через максимум. Для условий нормальной плазмы в температурном диапазоне 5000–8000 K с ростом температуры прогнозируется снижение концентрации ионов H_2O^+ и H_3O^+ , в то время как для остальных фоновых ионов должно происходить постепенное повышение их концентраций (рис. 26). При этом максимальные концентрации ионов в ИСП должны наблюдаться для H^+ , O^+ , Ar^+ и ArH^+ . Для средних температур диапазонов “холодной” (3000–4000 K) и нормальной (6000–7000 K) плазм суммарный ионный сигнал должен различаться на 3.0–3.5 порядка величины. Таким

образом, расчетные данные вновь хорошо подтверждают эксперимент [11, 22]. Для проверки правильности проведения расчетов термодинамического моделирования и получения однозначной оценки экспериментальной газокинетической температуры ИСП предложено сопоставлять одновременно концентрации всех учитываемых в расчетах основных фоновых ионов и экспериментально измеренные [11, 22] их сигналы при различных расчетных температурах “холодной” плазмы. Такое сопоставление иллюстрирует рис. 3. Хорошо видно, что наилучшая корреляция сравниваемых экспериментальных и теоретических данных (коэффициент детерминации $R^2 = 0.92$) достигается при температуре плазмы 3000 K. Данную температуру можно считать однозначной

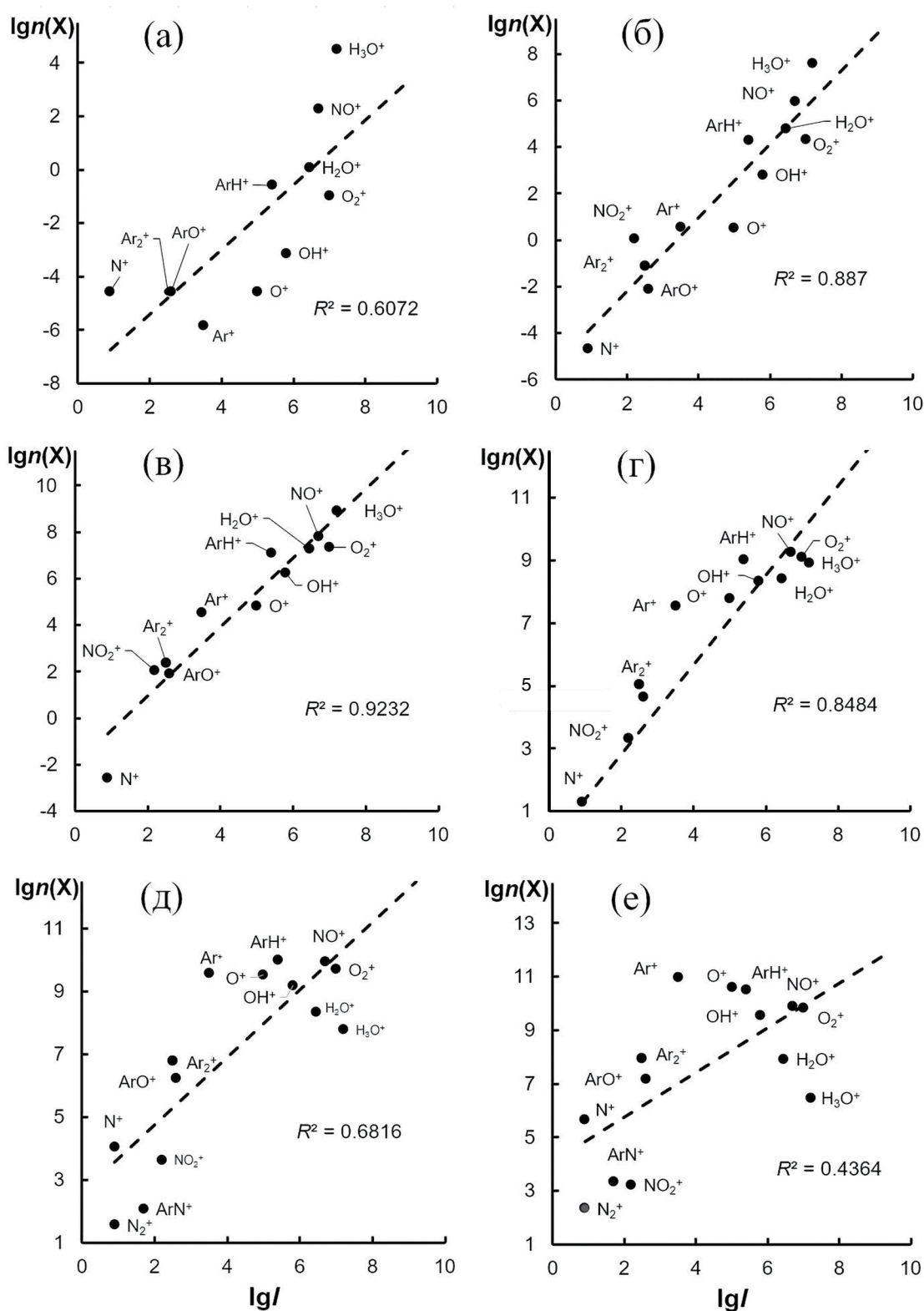


Рис. 3. Сопоставление рассчитанных логарифмов концентраций $\lg n(X)$ (см^{-3}) фоновых ионов X с логарифмами экспериментальных интенсивностей [11, 22] $\lg I$ (импульс/с) этих ионов, а также коэффициенты детерминации R^2 между расчетными и экспериментальными данными при различной расчетной температуре T “холодной” плазмы, К: (а) – 2000, (б) – 2500, (в) – 3000, (г) – 3500, (д) – 4000, (е) – 4500.

оценкой газокинетической температуры ИСП при указанных выше экспериментальных операционных условиях анализа (табл. 1).

На рис. 4 наглядно сопоставлены теоретические и экспериментальные данные по содержанию фоновых ионов в “холодной” ИСП для расчетной температуры 3000 К. Наблюдаемые экспериментально сигналы некоторых основных фоновых ионов могли быть отягощены возможными спектральными помехами при измерении сигналов данных ионов $^{14}\text{N}^+$ ($^{12}\text{C}^{14}\text{H}_2^+$), $^{14}\text{N}_2^+$ ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}^+$, $^{12}\text{C}_2^{14}\text{H}_4^+$) и $^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}^+$ ($^{38}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$) [15]. Расчеты дают в этих условиях очень низкие концентрации указанных основных фоновых ионов, в то время как экспериментально наблюдаются сигналы малой интенсивности для данных соотношений m/z .

Необходимо также отметить, что численные значения расчетной концентрации основных фоновых ионов (см^{-3}) превышают значения экспериментально измеренных интенсивностей фоновых ионов (импульс/с) на три порядка величины. Это связано с тем, что в приборах МС-ИСП происходят потери ионов при их передаче из факела плазмы в интерфейс, транспортировке ионов в интерфейс, ионно-оптической системе и масс-анализаторе, а также при регистрации ионного тока вакуумным электронным умножителем. Такие потери для МС-ИСП на указанных этапах передачи ионного потока по расчетам в работе [28] суммарно приводят к снижению эффективности транспортировки и регистрации ионов на три-четыре порядка величины.

При вариации расчетного массового соотношения $\text{H}_2\text{O} : \text{HNO}_3$ в диапазоне от 10 000 до 25 (массовое соотношение между потоками аргона и воды при этом оставалась неизменным и равным 96, табл. 2) изменения коэффициента детерминации R^2 между рассчитанными логарифмами концентраций $n(X)$ (см^{-3}) всей совокупности рассматриваемых фоновых ионов X и логарифмами экспериментальных интенсивностей I этих ионов [11, 22] при различной расчетной температуре T “холодной” плазмы практически не происходит (рис. 5).

При изменении массового соотношения $\text{Ar} : \text{H}_2\text{O}$ в диапазоне от 120 до 40 (обычное соотношение составляет 96) и постоянном соотношении $\text{H}_2\text{O} : \text{HNO}_3 = 1000$ (табл. 2) наблюдаются лишь небольшие различия в зависимостях расчетных концентраций фоновых ионов от температуры “холодной” плазмы (рис. 6).

Таким образом, при вариации расходов аргона, воды и азотной кислоты в термодинамической системе ИСП в достаточно широких пределах зависимости типа представленной на рис. 4 сохраняются. Следовательно, даже в случае неточного определения экспериментального соотношения компонентов системы аргон–вода–кислота из-за неизвестной эффективности распылительной

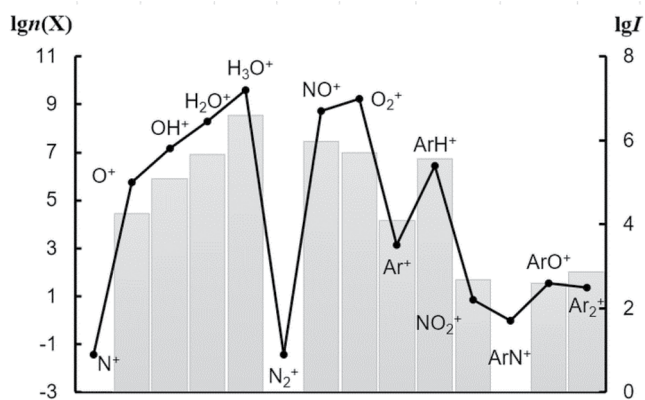


Рис. 4. Гистограмма сопоставления рассчитанных (столбики) логарифмов концентраций $\lg n(X)$ (см^{-3}) фоновых ионов X с логарифмами экспериментальных интенсивностей (точки) $\lg I$ (импульс/с) этих ионов [11, 22] при расчетной температуре “холодной” плазмы 3000 К.

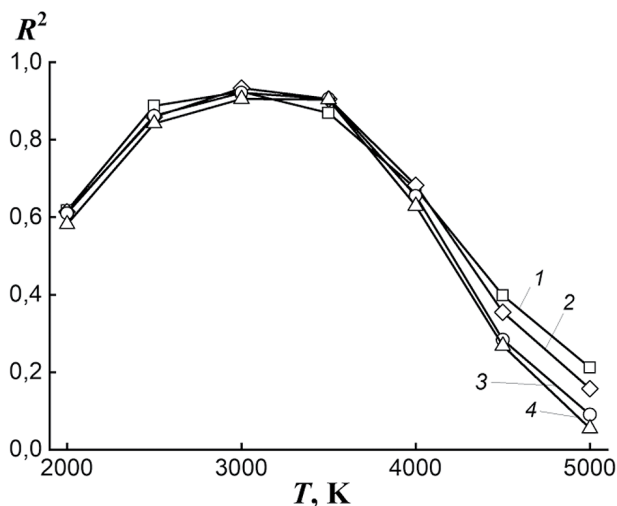


Рис. 5. Изменение коэффициента детерминации R^2 между рассчитанными логарифмами концентраций фоновых ионов (см^{-3}) и логарифмами экспериментальных интенсивностей (импульс/с) этих ионов [11, 22] в зависимости от температуры “холодной” плазмы T при различных массовых соотношениях $\text{H}_2\text{O} : \text{HNO}_3$: 1 – 10 000, 2 – 1000, 3 – 100, 4 – 25.

системы все отмеченные выше закономерности сохраняются.

Результаты термодинамического моделирования состава основных фоновых ионов МС-ИСП в режиме “холодной” плазмы и сопоставления с соответствующими экспериментальными данными позволяют сделать следующие выводы:

1. Разработанная ранее термодинамическая модель термохимических процессов в плазме МС-ИСП вновь продемонстрировала свою надежность, применимость и возможность дальнейшего развития.

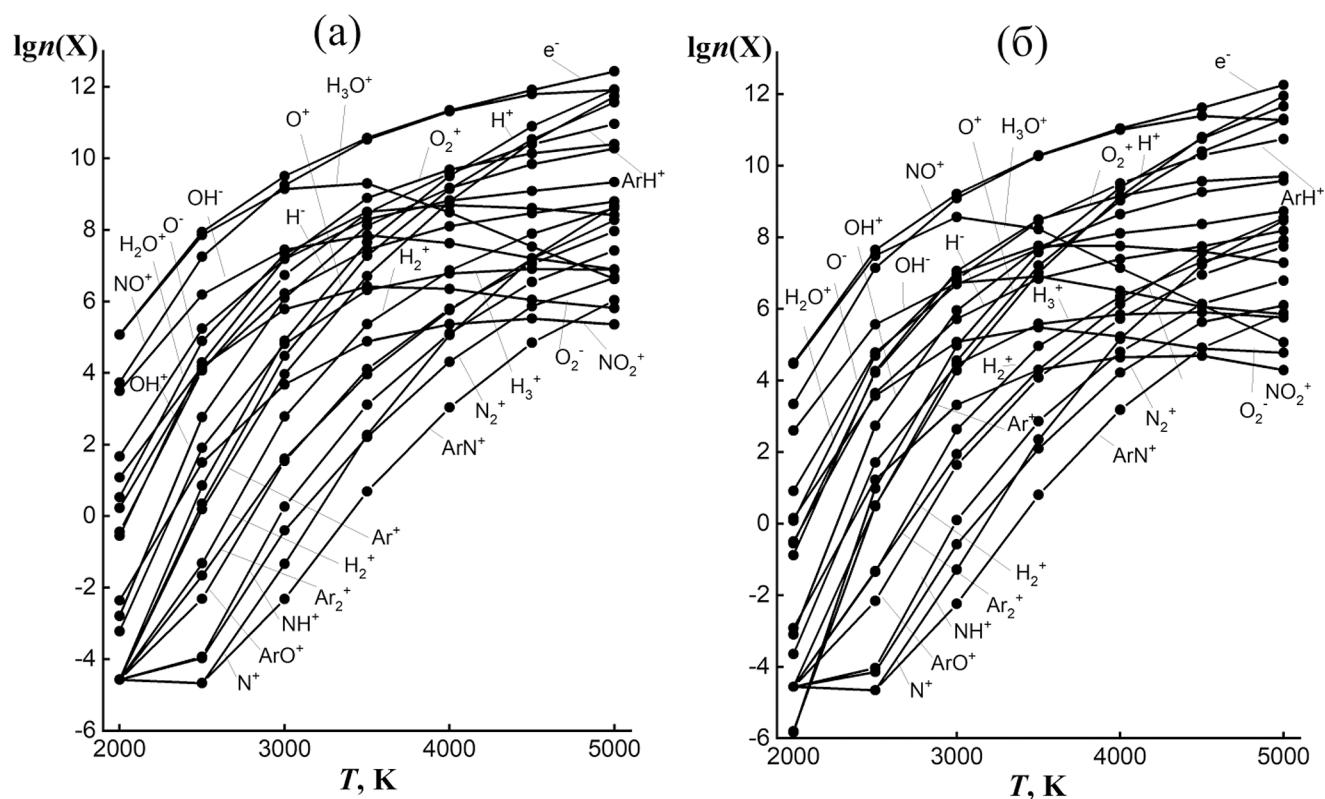


Рис. 6. Изменение расчетных логарифмов концентраций $\lg n(X)$ (cm^{-3}) различных фоновых ионов X в зависимости от температуры T (K) для условий “холодной” плазмы при различных массовых соотношениях $\text{Ar} : \text{H}_2\text{O}$: (а) — 40 (0.8 л/мин аргона) и (б) — 120 (2.4 л/мин аргона).

2. Опубликованные недавно результаты расчета термодинамических свойств для индивидуальных веществ Ar_2 , Ar_2^+ , ArH , ArH^+ , ArO , ArO^+ , ArN и ArN^+ показали свою достоверность.

3. Появилась возможность выполнять термодинамическое моделирование термохимических процессов в МС-ИСП с учетом присутствия в системе основных фоновых ионов, что может повысить достоверность моделирования, например при прогнозировании помех аргидных ионов и поведения аналитических ионов.

4. Близость экспериментальных данных МС-ИСП и результатов термодинамического моделирования термохимических процессов в индуктивно связанной плазме может свидетельствовать о том, что в режиме “холодной” плазмы все основные фоновые ионы образуются непосредственно в плазме разряда.

5. Предложен подход для однозначной оценки газокINETической температуры плазмы путем сопоставления расчетных и экспериментальных данных по концентрациям основных фоновых ионов в ИСП, учитывающий одновременно большое число рассматриваемых ионов.

6. Для конкретных операционных условий анализа оценена газокINETическая температура “холодной” ИСП.

7. Алгоритм термодинамического моделирования термохимических процессов для метода МС-ИСП можно дополнить следующим условием: в расчетах термодинамического равновесия в ИСП необходимо учитывать присутствие всех основных фоновых ионов.

Метод термодинамического моделирования можно успешно применять для описания термохимических процессов в приборах МС-ИСП в режиме “холодной” плазмы для получения информации о поведении основных фоновых ионов, ионов матрицы и аналита пробы в условиях широкого варьирования температурного режима плазмы и химического состава системы (транспортирующий газ, скорость ввода пробы, вид растворителей, концентрации матричных элементов и аналита).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена по госзаданию Института металлургии Уральского отделения Российской академии наук.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пупышев А.А., Суриков В.Т. Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой. Образование ионов. Екатеринбург: УрО РАН, 2006. 276 с.
2. Белов Г. В. Термодинамическое моделирование: методы, алгоритмы, программы. М.: Научный мир, 2002. 184 с.
3. Пупышев А.А., Луцак А.К., Музгин В.Н. Термодинамическое моделирование термохимических процессов в индуктивно связанной плазме // Журн. аналит. химии. 1998. Т. 53. № 7. С. 713. (Pupyshev A.A., Lutsak A.K., Muzgin V.N. Thermodynamic simulation of thermochemical processes in inductively coupled plasma // J. Anal. Chem. 1998. V. 53. № 7. P. 627.)
4. Пупышев А.А., Луцак А.К. Термодинамическое моделирование ионизационных влияний в плазме индуктивно связанного разряда // Журн. аналит. химии. 1998. Т. 53. № 11. С. 1141. (Pupyshev A.A., Lutsak A.K. Thermodynamic simulation of ionization effects in inductively coupled plasma // J. Anal. Chem. 1998. V. 53. № 11. P. 987.)
5. Pupyshev A.A., Muzgin V.N., Lutsak A.K. Thermochemical processes and ion transport in inductively coupled plasma mass spectrometry: Theoretical description and experimental confirmation // J. Anal. At. Spectrom. 1999. V. 14. № 9. P. 1485. <https://doi.org/10.1039/A902167A>
6. Пупышев А.А., Данилова Д.А. Разработка модели термохимических процессов для метода атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой // Аналитика и контроль. 2001. Т. 5. № 2. С. 112.
7. Пупышев А.А., Васильева Н.Л., Голик С.В. Влияние матрицы в масс-спектрометрии с использованием индуктивно связанной плазмы // Журн. прикл. спектроскоп. 1998. Т. 65. № 5. С. 768. (Pupyshev A.A., Vasil'eva N.L., Golik S.V. Effect of the matrix in mass spectrometry using an inductively coupled plasma // J. Appl. Spectrosc. 1998. V. 65. № 5. P. 804. <https://doi.org/10.1007/BF02679850>)
8. Pupyshev A.A., Semenova E.V. Formation of doubly charged atomic ions in the inductively coupled plasma // Spectrochim. Acta B: At. Spectrosc. 2001. V. 56. P. 2397. [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(01\)00301-9](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(01)00301-9)
9. Pupyshev A.A., Surikov V.T. Application of negative ions in inductively coupled plasma-mass spectrometry // Spectrochim. Acta B: At. Spectrosc. 2004. V. 59. P. 1021. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2004.05.011>
10. Pupyshev A., Lutsak A. The thermodynamical simulation of thermochemical processes in inductively coupled "cold" plasma mass-spectrometry // XIVth seminar on atomic spectrochemistry. Proceedings. High-Tatras — Podbanska, September 1998. P. 325.
11. Tanner S.D. Characterization of ionization and matrix suppression in inductively coupled 'cold' plasma mass spectrometry // J. Anal. At. Spectrom. 1995. V. 10. P. 905. <https://doi.org/10.1039/JA951000905>
12. Nonose N.S., Matsuda N., Fudagawa N., Kubota M. Some characteristics of polyatomic ion spectra in inductively coupled plasma mass spectrometry // Spectrochim. Acta B: At. Spectrosc. 1994. V. 49. № 10. P. 955. [https://doi.org/10.1016/0584-8547\(94\)80084-7](https://doi.org/10.1016/0584-8547(94)80084-7)
13. Ebert C.H., Witte T.M., Houk R.S. Investigation into the behavior of metal-argon polyatomic ions (MAr⁺) in the extraction region of inductively coupled plasma-mass spectrometry // Spectrochim. Acta B: At. Spectrosc. 2012. V. 76. P. 119. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2012.06.046>
14. Houk R.S., Praphairaksit Narong. Dissociation of polyatomic ions in the inductively coupled plasma // Spectrochim. Acta B: At. Spectrosc. 2001. V. 56. P. 1069. [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(01\)00236-1](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(01)00236-1)
15. Пупышев А.А., Энова Е.Н. Спектральные помехи полиатомных ионов в методе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой // Аналитика и контроль. 2001. Т. 5. № 4. С. 335.
16. May T.W., Wiedmeyer R.H. A Table of polyatomic interferences in ICP-MS // At. Spectrosc. 1998. V. 19. № 5. P. 150. <https://doi.org/10.46770/AS.1998.05.002>
17. Пупышев А.А., Луцак А.К. Расширение возможностей термодинамического моделирования термохимических процессов в плазме индуктивно связанного разряда // Журн. аналит. химии. 2002. Т. 57. № 8. С. 803. (Pupyshev A.A., Lutsak A.K. Extending the capabilities of the thermodynamic simulation of thermochemical processes in inductively coupled plasma discharge // J. Anal. Chem. 2002. V. 57. № 8. P. 672. <https://doi.org/10.1023/A:1016813607161>)
18. Мальцев М.А., Морозов И.В., Осина Е.Л. Термодинамические свойства димеров аргона Ar₂⁺ и Ar₂ // Теплофизика высоких температур. 2019. Т. 57. № 1. С. 42. <https://doi.org/10.1134/S0040364419010174> (Maltsev A., Morozov I.V., Osina E.L. Thermodynamic properties of Ar₂⁺ and Ar₂ argon dimers // High Temperature. 2019. V. 57. № 1. P. 37. <https://doi.org/10.1134/S0018151X19010176>)
19. Мальцев М.А., Морозов И.В., Осина Е.Л. Термодинамические свойства ArH⁺ и ArH // Теплофизика высоких температур. 2019. Т. 57. № 3. С. 367. <https://doi.org/10.1134/S0040364419020121> (Maltsev M.A., Morozov I.V., Osina E.L. Thermodynamic Properties of ArH⁺ and ArH // High Temperature. 2019. V. 57. № 3. P. 335. <https://doi.org/10.1134/S0018151X19020123>)

20. Мальцев М.А., Морозов И.В., Осина Е.Л. Термодинамические функции ArO и ArO⁺ // Теплофизика высоких температур. 2020. Т. 58. № 2. С. 202. <https://doi.org/10.31857/S0040364420020131> (Maltsev A., Morozov I.V., Osina E.L. Thermodynamic functions of ArO and ArO⁺ // High Temperature. 2020. V. 58. № 2. P. 184. <https://doi.org/10.1134/S0018151X20020133>)
21. Maltsev M.A., Aksenova S.A., Morozov I.V., Minenkov Y., Osina E.L. Ab initio calculations of the interaction potentials and thermodynamic functions for ArN and ArN⁺ // Comput. Chem. 2023. V. 44. № 12. P. 1189. <https://doi.org/10.1002/jcc.27078>
22. Tanner S.D., Paul M., Beres S.A., Denoyer E.R. The application of cold conditions for the determination of trace levels of Fe, Ca, K, Na, and Li by ICP-MS // At. Spectrosc. 1995. V. 16. № 1. P. 16.
23. Пупышев А.А., Сермягин Б.А. Дискриминация ионов по массе при изотопном анализе в методе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Екатеринбург: ГОУ ВПО УГТУ-УПИ, 2006. 132 с.
24. Wollenweber D., Strassburg S., Wunsch G. Determination of Li, Na, Mg, K, Ca and Fe with ICP-MS using cold plasma conditions // Fresenius J. Anal. Chem. 1999. V. 364. P. 433. <https://doi.org/10.1007/s002160051363>
25. Трусков Б.Г. TERRA. Программа термодинамического расчета состава фаз произвольных гетерогенных систем, а также их термодинамических и транспортных свойств. М.: МВТУ им. Н.Э. Баумана, 2005.
26. Белов Г.В., Трусков Б.Г. Термодинамическое моделирование химически реагирующих систем. М.: МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2013. 96 с.
27. Belov G.V., Iorish V.S., Yungman V.S. IVTANTHERMO for Windows — database on thermodynamic properties and related software // Calphad. 1999. V. 23. № 2. P. 173. [https://doi.org/10.1016/S0364-5916\(99\)00023-1](https://doi.org/10.1016/S0364-5916(99)00023-1)
28. Музгин В.Н., Емельянова Н.И., Пупышев А.А. Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой — новый метод в аналитической химии // Аналитика и контроль. 1998. Т. 2. № 3—4. С. 3.

ORIGINAL ARTICLES

THERMODYNAMIC MODELING OF THE COMPOSITION OF MAIN BACKGROUND IONS IN LOW-TEMPERATURE ("COLD") INDUCTIVELY COUPLED PLASMA

A. A. Pupyshev^{a,*}, P. V. Zaitceva^{a,b}, M. Yu. Burylin^c, M. A. Maltsev^{d,e},
I. V. Morozov^{d,e}, E. L. Osina^d

^a Department of Physical and Chemical Methods of Analysis, Institute of Physics and Technology, Ural Federal University, 620062 Yekaterinburg, Russia

^b Institute of Metallurgy. Ural Branch of Russian Academy of Sciences, 620016 Yekaterinburg, Russia

^c Analytical Chemistry Department, Faculty of Chemistry and High Technologies, Kuban State University, 350040 Krasnodar, Russia

^d Joint Institute for High Temperatures, Russian Academy of Sciences, 125412 Moscow, Russia

^e Moscow Institute of Physics and Technology, 141701 Dolgoprudny, Russia

*E-mail: pupyshev@gmail.com

Abstract. The possibility of studying the behavior of the main background ions formed by the primary elements of inductively coupled plasma (H, N, O, and Ar) in the low-temperature ("cold") plasma mode using the method of thermodynamic modeling has been considered. These ions, which create significant spectral interferences, are always observed when aqueous sample solutions are introduced into inductively coupled plasma mass spectrometers (ICP-MS). The quantitative composition of the main background ions in ICP-MS has been calculated using thermodynamic modeling over the temperature range from 2000 to 5000 K, depending on the plasma temperature. A comparison with experimental data from mass spectra measurements of the main background ions has been made, and a high degree of correlation between the theoretical and experimental results has been shown. The consistency of the calculations with the experiments confirms the correctness of the thermodynamic model used for the thermochemical processes in ICP-MS and its applicability for further calculations in solving analytical tasks. A method for unambiguously determining the gas-kinetic temperature of plasma, taking into account virtually all the main background ions, has been proposed.

Keywords: inductively coupled plasma mass spectrometry, "cold" plasma mode, main background ions, instrument operational parameters, plasma gas-kinetic temperature, thermodynamic modeling, argon ions.

УДК 543

СОРБЦИОННОЕ ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕТУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В СМЕШАННОЙ СИСТЕМЕ ГАЗ–ЖИДКИЙ КРИСТАЛЛ–МАКРОЦИКЛ–АДСОРБЕНТ В УСЛОВИЯХ ОБРАЩЕННОЙ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

© 2024 г. Г. В. Кувшинов^{а, *}, Л. О. Монахов^а, А. А. Кузьмина^а,
А. С. Семейкин^а, О. И. Койфман^{а, b}

^аИвановский государственный химико-технологический университет
просп. Шереметевский, 7, Центральный федеральный округ, Ивановская область, 153000 Иваново, Россия

^bНаучно-исследовательский институт макрогетероциклических соединений
просп. Шереметевский, 7, Центральный федеральный округ, Ивановская область, 153000 Иваново, Россия

*E-mail: gmkuvv@gmail.com

Поступила в редакцию 06.11.2023 г.

После доработки 22.11.2023 г.

Принята к публикации 22.11.2023 г.

4-[(S)-2-Метил-3-гидроксипропилокси]-4'-формилазобензол, 4-(3-гидроксипропилокси)-4'-формилазобензол и μ -оксодимер железа 2,8,12,18-тетраметил-3,7,13,17-тетра-*n*-амилпорфина синтезированы по известным методикам. Из синтезированных соединений приготовлена смесь с определенной концентрацией компонентов. Полученную смесь использовали в качестве пропитки широкопористого адсорбента Хроматон N-AW. Степень пропитки составила 10%. Приготовленный адсорбент использовали как неподвижную фазу для обращенной газо-мезофазной хроматографии. Методом обращенной газовой хроматографии изучено сорбционное перераспределение ряда летучих органических соединений — изомеров метил- и диметилпиридинов, слабополярных ксилолов и энантиомеров из газовой фазы на приготовленном адсорбенте. В ходе эксперимента рассчитаны удельные удерживаемые объемы сорбатов, характеризующие сорбционную активность приготовленной стационарной фазы. Для структурных изомеров получены коэффициенты активности распределения сорбатов в жидком слое жидкого кристалла. Для подтверждения данных по сорбционной активности сорбатов найдены термодинамические параметры растворения конкретных изомеров. Сделаны выводы о влиянии энтальпийного и энтропийного факторов на способность сорбатов к удерживанию. Обсуждается влияние строения, изомерии, межмолекулярных взаимодействий, добавления макроцикла на сорбционные особенности сорбатов. Получены данные по аналитическим особенностям сорбции, а именно: рассчитаны максимальные значения факторов разделения для структурных и оптических изомеров и соединений различного строения, но с близкими температурами кипения. Экспериментально установлено, что приготовленный адсорбент проявляет достаточно высокую способность к разделению близкокипящих структурных изомеров и умеренную способность к разделению энантиомеров. Сделан акцент на максимальном значении фактора разделения 3,4- и 3,5-лутидинов, наибольшим по сравнению с разработанными нами ранее стационарными фазами аналогичного строения. Обосновано применение полученного адсорбента в единой системе химического анализа.

Ключевые слова: газовая хроматография, жидкий кристалл, макроцикл, мезофаза, коэффициент активности, фактор разделения, сорбционная активность, сорбат, сорбент.

DOI: 10.31857/S0044450224080059, EDN: tjkpzc

Современная газовая хроматография как метод аналитической химии отличается высокой мощностью, простотой и производительностью. Этот метод позволяет анализировать и идентифицировать большое количество различных

веществ, таких как эфирные и растительные масла, медицинские препараты, продукты нефтепереработки, продукты питания и питьевую воду [1–3]. Кроме того, газовая хроматография используется для исследования адсорбционных

характеристик стационарных фаз. Метод основан на изучении явлений адсорбции и десорбции на границах раздела фаз [4].

Эффективность разделения компонентов в методе газовой хроматографии зависит от селективности и эффективности колонки. Развитие метода включает использование капиллярных колонок, программное регулирование температуры, использование масс-спектрометрического детектора и др. [5].

Современное оборудование для газовой хроматографии обеспечивает высокую точность и чувствительность определения, сокращая при этом затраты времени и ресурсов на анализ. Важным направлением развития газовой хроматографии является автоматизация аналитических процессов, что также снижает затраты времени и снижает влияние человеческого фактора [6].

Современная газовая хроматография представляет собой надежный и универсальный инструмент анализа, применимый в различных областях науки и техники. Благодаря своей производительности и потенциалу развития газовая хроматография, безусловно, сохранит свою значимость в области анализа разнообразных смесей веществ и исследования адсорбции и в будущем [7].

В газовой хроматографии для повышения селективности разделения часто используют модифицированные неподвижные фазы. Одним из способов модификации является использование жидких кристаллов и металлокомплексов. Такие неподвижные фазы позволяют с высокой селективностью разделять структурные изомеры и соединения с близкими температурами кипения [8, 9]. Специфические и неспецифические взаимодействия модификатора с сорбатами, образование супрамолекулярных ансамблей и комплексообразование обеспечивают высокую эффективность разделения [10].

Применение макрокомплексов в газовой хроматографии позволяет расширить возможности метода и улучшить его характеристики. Например, использование комплексов тетрафенилпорфина в качестве модификаторов увеличивает скорость разделения компонентов смеси и повышает эффективность анализа. Кроме того, такие комплексы обладают в том числе высокой селективностью к ароматическим соединениям и могут использоваться для их определения в сложных смесях [11]. Таким образом, применение металлокомплексов в газовой хроматографии открывает новые возможности для анализа сложных смесей веществ и позволяет повысить эффективность и точность анализа.

Для более широкой реализации механизмов сорбции целесообразно готовить смешанные стационарные фазы, например включающие матрицу жидких кристаллов и распределенный

в ней макрокомплекс. В таких системах осуществляются взаимодействия типа “гость-хозяин”, аксиальное комплексообразование и другие подобные процессы [12, 13].

Цель настоящей работы – выявление термодинамических особенностей сорбции летучих органических соединений и энантиомеров на адсорбенте, модифицированном смесью 4-[(S)-2-метил-3-гидроксипропилокси]-4'-формилазобензола (**S-МГПОФАБ**), 4-(3-гидроксипропилокси)-4'-формилазобензола (**ГПОФАБ**) и μ -оксодимера железа 2,8,12,18-тетраметил-3,7,13,17-тетра-*n*-амилпорфина (**μ -ОТМАР-Fe**), а также определение селективных свойств приготовленного адсорбента по отношению к изомерам.

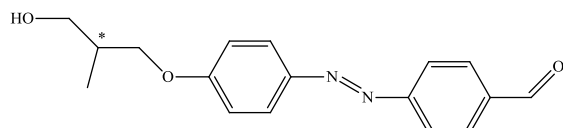
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез и идентификация соединений. 4-[(S)-2-Метил-3-гидроксипропилокси]-4'-формилазобензол (схема 1а), 4-(3-гидроксипропилокси)-4'-формилазобензол (схема 1б) и μ -оксодимер железа 2,8,12,18-тетраметил-3,7,13,17-тетра-*n*-амилпорфина (схема 1в) синтезировали по методикам [14, 15].

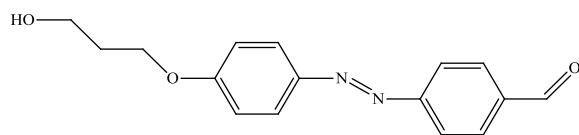
Материалы и реактивы для газовой хроматографии. Использовали диатомитовый широкопористый адсорбент Хроматон N-AW от компании “Хром-Лаб” (Россия). В качестве исследуемых веществ применяли различные органические соединения, такие как диметилпиридины, метилпиридины, *n*- и *m*-ксилолы и др. Рассматривали также энантиомеры некоторых соединений: (2S,3S)-(+)-2,3-бутандиол, (2R,3R)-(-)-2,3-бутандиол, (+)- α -пинен, (-)- α -пинен, (S)-(+)-лимонен, (S)-(-)-лимонен, (1S,2R,5S)-(+)-ментол, (1R,2S,5R)-(-)-ментол. Все исследуемые соединения и необходимые реактивы приобретали у компании Aldrich (Германия). Эксперименты проводили на газовом хроматографе Shimadzu GC-2014 с высокочувствительным пламенно-ионизационным детектором, обеспечивающим регистрацию ионизационного тока в интервале температур от 0 до 400°C.

Мезоморфные свойства синтезированных соединений, а также смесей на их основе исследовали методом поляризационной термомикроскопии на микроскопе Polar.

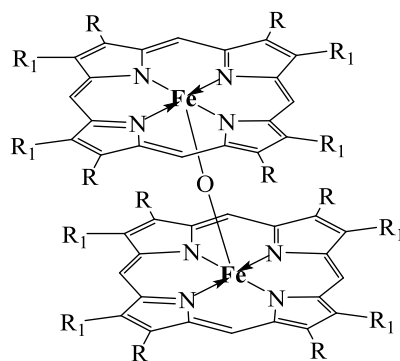
Приготовление сорбента. Адсорбент готовили стандартным методом. Определенное количество жидкого кристалла (**ЖК**) и макроцикла растворяли в хлороформе. Затем в этот раствор добавляли твердый носитель и смесь нагревали на водяной бане до полного испарения растворителя при постоянном перемешивании. Для удаления остатков хлороформа готовый сорбент высушивали в вакуумной печи в течение 24 ч при 40°C и остаточном давлении 2–5 мм рт. ст.



(a)



(б)



(в)

где $R = -C_5H_{11}$, $R_1 = -CH_3$

Схема 1. Структурные формулы (а) 4-[(S)-2-метил-3-гидроксипропилокси]-4'-формилазобензол, (б) 4-(3-гидроксипропилокси)-4'-формилазобензол, (в) μ -оксидимер железа 2,8,12,18-тетраметил-3,7,13,17-тетра- η -амилпорфина.

Колонку длиной 1 м и внутренним диаметром 3 мм, предварительно очищенную ацетоном, заполняли полученным сорбентом с помощью водоструйного насоса и вибратора.

Затем колонку кондиционировали в потоке гелия в течение 6 ч при 160°C. Свойства полученной стационарной фазы охарактеризованы ниже:

Состав сорбента	Твердый носитель и неподвижная фаза в колонке, г	Общая масса модификатора в колонке, г	Содержание ЖК модификаторов от общей массы стационарной фазы, % (г)	Содержание макроциклического допанта от количества ЖК, % (г)
Хроматон N-AW/ ГПОФАБ/S-МГПОФАБ/ μ -ОТМТАР-Fe	3.281	0.344	10 (0.328)	5 (0.0163)

Расчет физико-химических параметров адсорбции и распределения. Первичной расчетной информацией для получения термодинамических параметров растворения немезогенов по данным газохроматографического эксперимента служили величины удельных удерживаемых объемов, V_g (м³/кг), сорбатов на исследуемых мезогенах, которые вычисляли по известному выражению:

$$V_g^T = \frac{(\tau_R - \tau_M) \cdot j_3^2 \cdot F_{Pa, Tc}}{W_s}, \quad (1)$$

где τ_R и τ_M — времена удерживания сорбата и несорбирующегося вещества соответственно, ч; W_s — масса адсорбента, кг; $F_{Pa, Tc}$ — объемная скорость газа-носителя на выходе из колонки при температуре колонки T_c и атмосферном давлении P_a , м³/ч; j — фактор коррекции на сжимаемость газовой фазы Джеймса и Мартина:

$$j_3^2 = \frac{3}{2} \cdot \frac{(P_i / P_0)^2 - 1}{(P_i / P_0)^3 - 1}, \quad (2)$$

где P_0 — атмосферное давление, кПа; P_i — давление на входе в колонку, кПа.

$$F_{P, Tc} = j_3^2 \cdot F_{Pa, Ta}, \quad (3)$$

где $F_{P, Tc}$ — объемная скорость (м³/ч) газа-носителя на выходе из колонки в момент определения.

Исходя из этого:

$$V_g^T = \frac{(\tau_R - \tau_M) \cdot F_{P, Tc}}{W_s}. \quad (4)$$

Из полученных значений V_g рассчитывали коэффициенты активности γ^∞ немезоморфных веществ при бесконечном разбавлении:

$$\ln \gamma^\infty = \ln \frac{RT}{V_g P_2^0 M_1} - \frac{P_2^0 B_{22}}{RT}, \quad (5)$$

где P_2^0 — давление насыщенного пара сорбата при температуре колонки T , M_1 — молекулярная масса модификатора, B_{22} — второй вириальный коэффициент немезогена.

Факторы разделения для различных изомеров определяли как отношение их приведенных времен удерживания:

$$\pm_{1,2} = \frac{\tau_{R1}}{\tau_{R2}}, \quad (7)$$

τ_{R1} и τ_{R2} — приведенные времена удерживания пар сорбатов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сорбционная активность и термодинамические особенности сорбции на исследуемом сорбенте.

С помощью газо-мезофазной хроматографии исследовали сорбционное перераспределение органических соединений разных классов с разной полярностью, температурами кипения и способностью к межмолекулярному взаимодействию на сорбенте на основе смесей Хроматон N-AW/

ГПОФАБ/S-МГПОФАБ/ μ -ОТМТАР-Fe. Состав сорбента приведен выше. Получили данные по удельным удерживающим объемам V_g при различных температурах колонки, соответствующих различным фазам жидких кристаллов (кристаллическая, нематическая, смектическая, изотропная). Значения удельных удерживающих объемов сорбатов представлены в табл. 1, 2. Из таблиц видно, что существует различие в удерживании сорбатов в кристаллической (до 127°C),

Таблица 1. Удельные удерживаемые объемы структурных изомеров (см³/г) при различной температуре колонки

Температура колонки, °C	2,3-Лутидин	2,6-Лутидин	3,4-Лутидин	3,5-Лутидин	2-Пиколин	3-Пиколин	4-Пиколин	м-Ксилол	п-Ксилол
100	47.28	19.60	110.18	73.53	17.07	30.06	36.05	4.98	5.08
110	36.44	15.66	82.01	55.94	13.59	23.55	27.81	4.26	4.37
115	32.82	14.29	73.60	50.38	12.45	21.38	24.99	4.09	4.14
120	29.96	13.36	66.25	45.91	11.40	19.23	22.23	4.01	3.85
125	27.21	12.29	58.42	41.14	10.69	18.10	20.73	3.78	3.74
127	26.81	12.30	57.61	40.72	10.61	17.83	19.61	3.85	3.77
130	26.20	12.15	65.54	39.42	10.39	17.43	19.61	3.95	3.84
132	23.86	11.08	49.94	35.76	9.56	16.00	17.98	3.62	3.50
135	23.51	11.03	48.22	35.08	9.39	16.57	17.41	3.75	3.66
138	21.55	10.27	43.60	31.94	8.69	14.39	15.95	3.62	3.55
140	20.40	9.79	40.81	30.01	8.26	13.61	15.04	3.83	3.71
143	18.77	9.07	37.26	27.55	7.63	12.57	13.91	3.59	3.53
145	17.87	8.65	35.33	26.17	7.42	12.10	13.34	3.61	3.54
150	15.51	7.61	30.26	22.56	6.53	10.58	11.65	3.30	3.25
155	13.44	6.67	26.12	19.48	5.81	9.27	10.15	3.03	3.04

Таблица 2. Удельные удерживаемые объемы оптических изомеров (см³/г) при различной температуре колонки

Температура колонки, °C	(2S,3S)-(+)-2,3-Бутандиол	(2R,3R)-(-)-2,3-Бутандиол	(S)-(+)-Лимонен	(S)-(-)-Лимонен	(+)- α -Пинен	(-)- α -Пинен	(1S, 2R, 5S)-(+)-Ментол	(1R, 2S, 5R)-(-)-Ментол
100	51.21	49.43	5.99	5.86	2.67	2.71	77.34	77.69
110	35.27	35.31	5.08	4.93	2.30	2.31	54.91	55.30
115	29.90	29.85	4.83	4.80	2.24	2.25	47.37	47.70
120	26.25	26.28	4.70	4.68	2.20	2.19	41.48	41.59
125	23.34	23.29	4.61	4.63	2.10	2.12	36.85	36.79
127	22.71	22.24	4.63	4.63	2.18	2.18	35.59	35.60
130	23.51	21.54	5.24	4.97	2.38	2.39	33.63	33.63
132	23.25	23.13	5.61	5.34	2.54	2.60	32.36	32.43
135	20.77	20.73	5.77	5.75	2.66	2.68	30.67	30.59
138	19.43	19.39	5.74	5.64	2.55	2.61	29.02	29.07
140	18.33	18.31	5.51	5.44	2.52	2.50	28.04	28.04
143	16.71	16.73	5.23	5.18	2.44	2.46	26.40	26.48
145	15.37	15.85	5.17	5.16	2.53	2.55	25.33	25.40
150	14.34	14.66	5.07	5.01	2.33	2.37	22.22	22.24
155	12.56	12.73	4.61	4.58	2.16	2.19	19.14	19.25

смектической (127–132°C) и нематической (132–143°C) фазах жидких кристаллов. Данное состояние ЖК характеризуется повышенной анизотропией свойств, а следовательно, и повышением удельных удерживаемых объемов. В этом случае происходит переход от адсорбционного механизма к распределению сорбатов в жидком слое ЖК, и сорбция облегчается благодаря усилению межмолекулярного взаимодействия и увеличению подвижности самих сорбатов, которые распределяются непосредственно в матрице жидкого кристалла, по сравнению с твердой кристаллической структурой. Переход от одного механизма сорбции к другому иллюстрируют зависимости логарифма удельного удерживаемого объема от обратной температуры колонки — наблюдается скачкообразное изменение хода зависимости (рис. 1).

Важную роль играет также упорядоченность жидкого кристалла. Ориентационная упорядоченность жидкого кристалла проявляется в стереоселективном ограничении сорбции определенных сорбатов. Таким образом, более геометрически анизотропные соединения, такие как 3,4-лутидин, 4-пиколин, *n*-ксилол и (1R,2S,5R)-ментол, удерживаются сильнее.

В ряду диметилпиридинов (лутидинов) наиболее сильное удерживание и самые высокие удельные удерживаемые объемы наблюдаются для 3,4-лутидина. Это связано с его структурой, в которой метильные группы максимально удалены от атома азота, что позволяет 3,4-лутидину образовывать осевые (аксиальные) комплексы с макроциклами и специфически взаимодействовать с конечными группами жидкокристаллического модификатора. Напротив, 2,6-диметилпиридин демонстрирует самые низкие значения удерживания из-за его пространственной структуры и стерических ограничений.

В ряду метилпиридинов (пиколинов) наблюдается аналогичная картина. Самым сорбционно активным изомером является 4-пиколин с наиболее высокими удельными удерживаемыми

объемами в этом ряду. Это также связано с максимальным удалением метильной группы от атома азота.

Для подтверждения изложенных выше тезисов проанализировали термодинамические параметры растворения структурных изомеров в нематической и изотропной жидкой фазах исследованных мезогенов (табл. 3). Из расчетов видно, что структурное разделение слабополярных ксилолов в основном происходит за счет энтропийного вклада, обусловленного существенными отличиями в проявлении стерического эффекта при растворении в жидком кристалле, алифатические заместители которого связаны водородными связями. Отмеченная закономерность сохраняется при рассмотрении термодинамики растворения и электронодонорных изомерных лутидинов. Однако в этом случае повышенный энтропийный вклад связан с участием протонодонорных гидроксильных групп в специфических когезионных взаимодействиях жидкокристаллической фазы.

Таблица 3. Термодинамические параметры растворения структурных изомеров при бесконечном разбавлении

Сорбат	$\Delta H_{\text{soln}\infty}$, кДж/моль		$\Delta S_{\text{soln}\infty}$, Дж/(моль·К)	
	N	I	N	I
2,3-Лутидин	-33.48	-42.32	-82.88	-94.65
2,6-Лутидин	-28.57	-38.67	-71.92	-86.42
3,4-Лутидин	-52.83	-44.90	-120.91	-100.87
3,5-Лутидин	-36.28	-43.91	-89.09	-98.43
2-Пиколин	-30.98	-36.40	-75.29	-81.29
3-Пиколин	-34.08	-39.72	-82.41	-88.48
4-Пиколин	-35.27	-40.69	-84.65	-90.24
<i>m</i> -Ксилол	-5.09	-26.14	-25.89	-62.28
<i>n</i> -Ксилол	-4.10	-22.77	-23.86	-56.08

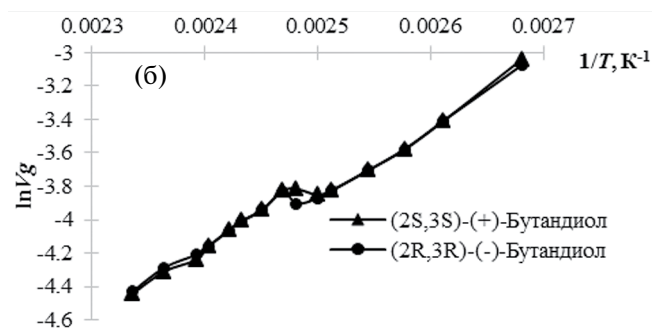
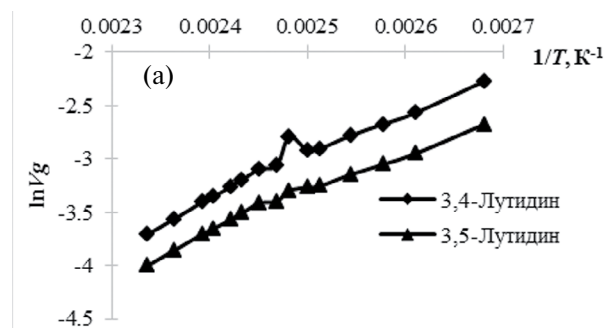


Рис. 1. Зависимость логарифма удельного удерживаемого объема от обратной температуры колонки. (а) — для 3,4- и 3,5-лутидинов, (б) — для (2S,3S)-(+)- и (2R,3R)-(-)-2,3-бутандиолов).

В табл. 4 приведены коэффициенты активности сорбатов. Как видно, все коэффициенты активности являются положительными. Это говорит о том, что для всех исследуемых сорбатов и для всех фаз ЖК наблюдается положительное отклонение от закона Рауля ($\gamma > 1$), что свидетельствует о наличии у сорбатов в растворе повышенной энергии. Чем выше значения γ , тем сильнее отклонение от идеальности и тем слабее сорбционная активность в растворе. Это подтверждается сравнением данных по удельным удерживаемым объемам (табл. 1) и коэффициентам активности. В связи с этим, как можно было ожидать, для инертных ксилолов характерны наибольшие коэффициенты активности и, как следствие, наименьшая сорбционная емкость при растворении в слое ЖК. Вероятно, это зависит от химической активности самих ксилолов, наличия макроцикла в слое ЖК, специфических взаимодействий сорбат–сорбент, что в итоге приводит к увеличению давления над раствором, уменьшению сорбционной активности и увеличению γ .

Аналитические характеристика предложенного сорбента оценивали по максимальному значению фактора разделения, который представляет собой отношение приведенных времен удерживания исследуемых пар сорбатов. Максимальные значения фактора разделения и соответствующие температуры, при которых они были найдены, приведены в табл. 5. Как видно, предложенный адсорбент с высокой эффективностью справляется с разделением структурных изомеров. Так, фактор разделения 3,4- и 3,5-лутидинов составил 1.68, что является достаточно высоким показателем по сравнению с исследованными нами ранее стационарными фазами, содержащими как чистые ЖК различного строения, так и состоящими только из макроциклических

добавок, распределенных в слое силикона [16]. Такое эффективное разделение, вероятно, связано как со строением метилпиридинов, так и со способностью метилпиридинов образовывать аксиальные комплексы с макроциклическим модификатором и взаимодействовать с концевыми группами ЖК. Кроме того, разделение 3,4-, 3,5-лутидинов проводили при 132°C, что соответствует смектической фазе смеси ЖК, образующейся только при охлаждении.

Стоит отметить, что и для других структурных изомеров наблюдаются достаточно высокие показатели по структурной селективности. Особенно выделяются пары сорбатов, различные по строению, но с близкими температурами кипения, например 3-пиколин и *m*-, *n*-ксилолы,

Таблица 5. Максимальные значения факторов разделения

Сорбаты ($T_{\text{кип}}$, °C)	α (T , °C)
3,4-Лутидин (179.1)–3,5-лутидин (172.2)	1.68 (130)
4-Пиколин (145.4)–3-пиколин (144.0)	1.20 (100)
3-Пиколин (144.0)–2,6-лутидин (144.0)	1.54 (130)
<i>m</i> -Ксилол (139.1)– <i>n</i> -ксилол (138.4)	1.05 (120)
3-Пиколин (144.0)– <i>n</i> -ксилол (138.4)	5.92 (100)
3-Пиколин (144.0)– <i>m</i> -ксилол (139.1)	6.07 (100)
2,6-Лутидин (144.0)– <i>n</i> -ксилол (138.4)	3.86 (100)
(2S,3S)-(+)-Бутандиол (180.0)–(2R,3R)-(-)-2,3-бутандиол (180.7)	1.10 (130)
(+)- α -Пинен (155.0)–(-)- α -пинен (155.0)	1.03 (132)
(S)-(+)-Лимонен (175.0)–(S)-(-)-лимонен (175.0)	1.05 (132)
(1R,2S,5R)-(-)-Ментол (212.0)–(1S,2R,5S)-(+)-ментол (214.0)	1.01 (130)

Таблица 4. Коэффициенты активности сорбатов (γ)

Температура колонки, °C	2,3-Лутидин	2,6-Лутидин	3,4-Лутидин	3,5-Лутидин	2-Пиколин	3-Пиколин	4-Пиколин	<i>m</i> -Ксилол	<i>n</i> -Ксилол
130	10.50	13.82	7.05	9.51	10.85	9.78	8.62	36.20	37.18
132	10.90	14.38	8.71	9.89	11.24	10.12	8.92	37.55	38.82
135	10.18	13.36	8.26	9.25	10.63	9.04	8.54	33.70	34.56
138	10.24	13.30	8.37	9.34	10.71	9.66	8.65	32.48	33.17
140	10.25	13.28	8.45	9.40	10.76	9.73	8.73	29.23	30.25
143	10.30	13.31	8.51	9.44	10.86	9.79	8.78	29.12	29.65
145	10.28	13.31	8.50	9.42	10.69	9.69	8.73	27.63	28.25
150	10.44	13.46	8.67	9.58	10.88	9.86	8.90	27.00	27.61
155	10.65	13.69	8.82	9.77	10.99	10.06	9.13	26.42	26.44

для которых значения фактора разделения очень высокие. Это связано, очевидно, со строением и более сильным удерживанием сорбата, содержащего гетероатом (3-пиколин).

Рассматривая сорбционное перераспределение оптически активных сорбатов, следует отметить, что данные пары соединений очень чувствительны к составу и химической активности неподвижной фазы. В данном случае можно выделить пару (2S,3S)-(+)-бутандиол–(2R,3R)-(-)-

-2,3-бутандиол, для которой фактор разделения составил 1.10. Вероятно, наличие гидроксильных групп у бутандиолов обеспечивает возможность взаимодействия с обоими активными терминальными заместителями мезогенов, что приводит к взаимной компенсации термодинамических эффектов сорбции изомеров и незначительно повышает структурную селективность.

Примеры разделения изомеров приведены на рис. 2, 3.

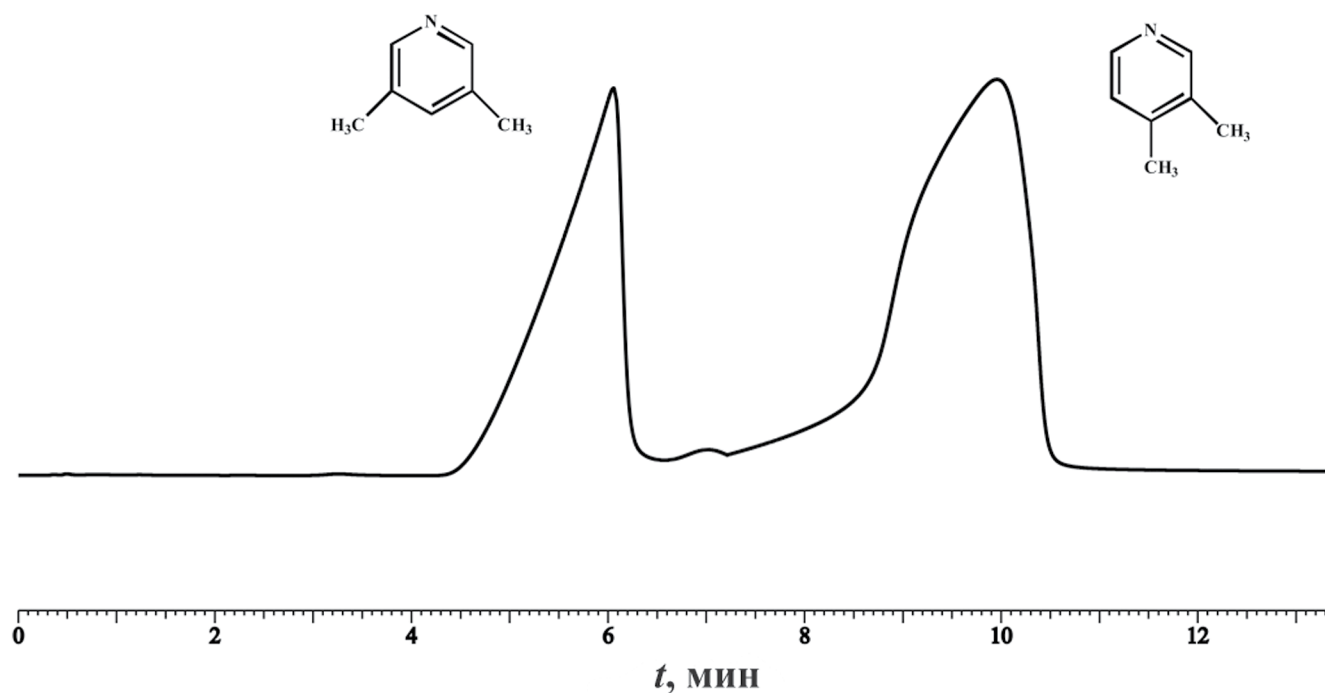


Рис. 2. Хроматограмма разделения 3,4- и 3,5-лутидинов.

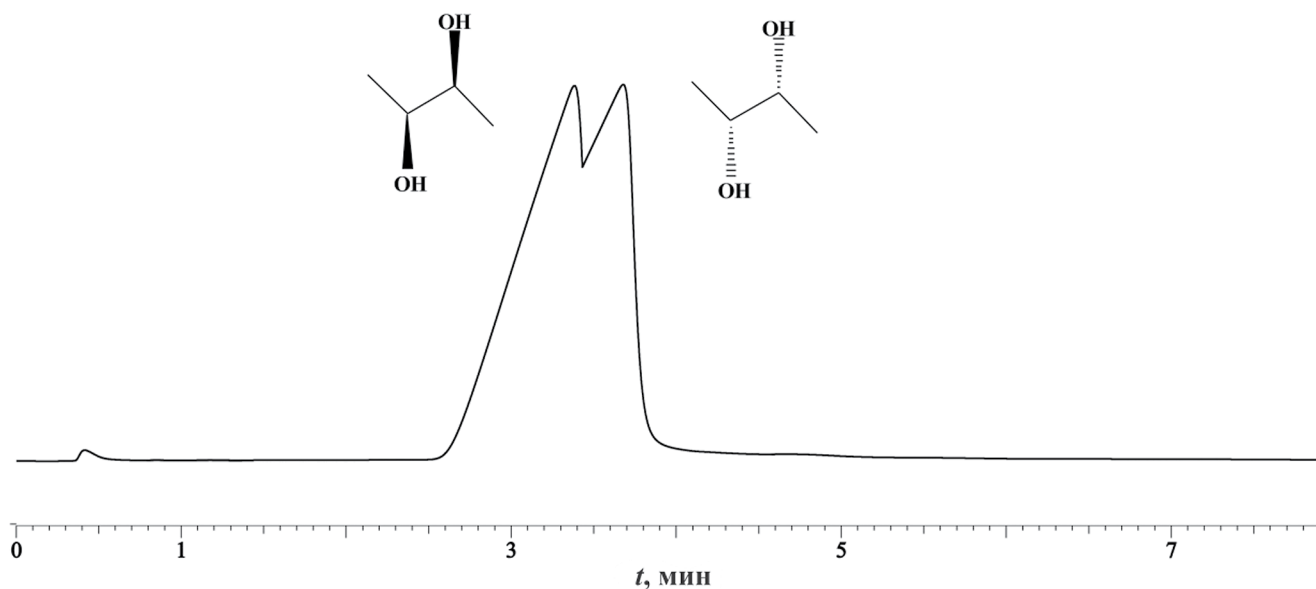


Рис. 3. Хроматограмма разделения (2S,3S)-(+)- и (2R,3R)-(-)-2,3-бутандиолов.

* * *

Таким образом, установлено, что сорбент на основе 4-[(S)-2-метил-3-гидроксипропилокси]-4'-формилазобензола, 4-(3-гидроксипропилокси)-4'-формилазобензола и μ -оксодимера железа 2,8,12,18-тетраметил-3,7,13,17-тетра-*n*-амилпорфина обеспечивает высокую разделяющую способность структурных изомеров соединений разных классов с близкими температурами кипения и энантиомеров. Показано, что удерживание сорбатов происходит в основном за счет энтропийного вклада в сорбцию, а коэффициенты активности сорбатов напрямую коррелируют с их сорбционной активностью. Предложенная стационарная фаза проявила себя как универсальный селективный сорбент по отношению к изомерам и может быть рекомендована для использования в единой системе химического анализа.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (РНФ). Соглашение № 22-73-00057.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анишкова А.В., Конюхов В.Ю. Исследование растворимости рифабутина в воде в присутствии циклодекстрина методом обращенной газовой хроматографии // Журн. прикл. химии. 2017. Т. 90. № 2. С. 187. (Anshakova A.V., Konyukhov V.Y. Study by inverse gas chromatography of the solubility of rifabutin in water in the presence of cyclodextrin // Russ. J. Appl. Chem. 2017. V. 90. № 2. P. 209. <https://doi.org/10.1134/s1070427217020082>)
2. Ghasemi E., Sillanpää M., Najafi N.M. Headspace hollow fiber protected liquid-phase microextraction combined with gas chromatography–mass spectroscopy for speciation and determination of volatile organic compounds of selenium in environmental and biological samples // J. Chromatogr. A. 2011. V. 1218. № 3. P. 380. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.12.005>
3. Portolés T., Pitarch, E. López F.J., Hernández F.J. Development and validation of a rapid and wide-scope qualitative screening method for detection and identification of organic pollutants in natural water and wastewater by gas chromatography time-of-flight mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2011. V. 1218. № 2. P. 303. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.11.010>

4. Xingchen Zhai, Haitian Zhao, Min Zhang, Xin Yang, Jingming Sun, Yongxin She, et al. New stationary phase for hydrophilic interaction chromatography to separate chito-oligosaccharides with degree of polymerization 2–6 // J. Chromatogr. B. 2018. V. 1081–1082. № 1. P. 33. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.02.024>
5. Walter G.J., Colin F.P. Milestones in the development of gas chromatography / Handbooks in Separation Science. 2021. V. 1. P. 1. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820675-1.00018-6>
6. Costa R., Dugo P., Santi L., Dugo G., Mondello L. Advances of modern gas chromatography and hyphenated techniques for analysis of plant extracts // Curr. Org. Chem. 2010. V. 14. № 16. P. 1752. <https://doi.org/10.2174/138527210792927636>
7. Nicholas H. From Pittcon 2023 and beyond: The gas chromatography products to watch this year // LCGC North America. 2023. V. 41. № 4. P. 129. <https://doi.org/10.56530/lcgc.na.kr7285g3>
8. Witkiewicz Z., Oszczudowski J., Repelewicz M. Liquid-crystalline stationary phases for gas chromatography // J. Chromatogr. A. 2005. V. 1062. № 2. P. 155. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.11.042>
9. Карцова Л.А., Маркова О.В., Амельченко А.И., Остринина Н.Д. Макроциклы как компоненты газохроматографических фаз // Журн. аналит. химии. 2000. Т. 55. № 3. С. 302. (Kartsova L.A., Markova O.V., Amel'chenko A.I., Ostryanina N.D. Macrocycles as components of gas-chromatographic phases // J. Anal. Chem. 2000. V. 55. № 3. P. 270. <https://doi.org/10.1007/BF02757212>)
10. Kuvshinova S.A., Burmistrov V.A., Novikov I.V., Alexandriysky V.V., Koifman O.I. Selectivity, thermodynamic and anisotropic properties of substituted liquid-crystal cyanoazoxybenzenes as stationary phases for gas chromatography // Journal of Chromatography and Separation Techniques. 2016. V. 7. № 1. P. 314. <https://doi.org/10.4172/2157-7064.1000314>
11. Yan Yuan, Wang Zhenzhong, Zhang Zitong, He Zhen, Luo Lun, Fan Jing. Capillary gas chromatographic separation performances of a tetraphenyl porphyrin stationary phase // Front. Chem. 2022. V. 10. P. 1. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.800922>
12. Kopytin K.A., Bykov E.S., Sinkov I.Yu., Onuchak L.A. Isomer-selective properties of carbon adsorbent modified by "4-n-octyloxy-4'-cyanobiphenyl – β -cyclodextrin" under gas-adsorption chromatography conditions // Liq. Cryst. Appl. 2018. V. 18. № 4. P. 6. <https://doi.org/10.18083/LCAppl.2018.4.6>
13. Онучак Л.А., Тугарева Д.А., Капалова Т.С., Кураева Ю.Г., Кувшинова С.А., Бурмистров В.А. Сорбционные и селективные свойства сорбента "супрамолекулярный жидкий кристалл- β -циклодекстрин" в условиях газовой хроматографии // Физикохимия поверхности и защита материалов. 2015. Т. 51. № 6. С. 587.

- (Onuchak L.A., Tugareva D.A., Kapralova T.S., Kuraeva Yu. G., Kuvshinova S.A., Burmistrov V.A. Sorption and selective properties of supramolecular liquid crystal- β cyclodextrin sorbent under conditions of gas chromatography // Prot. Met. Phys. Chem. Surf. 2015. V. 51. P. 944. <https://doi.org/10.1134/S2070205115060155>)
14. Кувшинова С.А., Завьялов А.В., Койфман О.И., Александрийский В.В., Бурмистров В.А. Мезогенные 4-(омега-гидроксиалкилокси)-4'-формилазобензолы // Журн. орг. химии. 2004. Т. 40. № 8. С. 1161. (Kuvshinova S.A., Zav'yalov A.V., Koifman O.I., Aleksandriiskii V.V., Burmistrov V.A. Mesogenic 4-(ω -Hydroxyalkoxy)-4'-formylazobenzenes // Russ. J. Org. Chem. 2004. V. 40. P. 1113. <https://doi.org/10.1023/B:RUJO.0000045889.46816.0b>)
 15. Colombari C., Kudrik E.V., Tyurin D.V., Albrieux F., Nefedov S.E., Afanasiev P., Sorokin A.B. Synthesis and characterization of μ -nitrido, μ -carbido and μ -oxo dimers of iron octapropylporphyrine // Dalton Trans. 2015. V. 44. № 5. P. 2240. <https://doi.org/10.1039/C4DT03207A>
 16. Кувшинов Г.В., Койфман О.И. Термодинамические характеристики сорбции и разделения производных пиридина сорбентами на основе пиразинопорфразинов // Журн. физ. химии. 2018. Т. 92. № 10. С. 1612. (Kuvshinov G.V., Koifman O.I. Thermodynamic characteristics of the sorption and separation of pyridine derivatives using pyrazinoporphyrine based sorbents // Russ. J. Phys. Chem. A. 2018. V. 92. № 10. P. 2025. <https://doi.org/10.1134/S0036024418100163>)

ORIGINAL ARTICLES

SORPTIVE REDISTRIBUTION OF VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS IN A MIXED GAS–LIQUID CRYSTAL–MACROCYCLE–ADSORBENT SYSTEM UNDER REVERSED GAS CHROMATOGRAPHY CONDITIONS

G. V. Kuvshinov ^{a,*}, L. O. Monakhov^a, A. A. Kuzmina^a, A. S. Semeykin^a, O. I. Koifman ^{a,b}

^a *Ivanovo State University of Chemistry and Technology, 153000 Ivanovo, Russia*

^b *Research Institute of Macrocyclic Compounds, 153000 Ivanovo, Russia*

*E-mail: gmkuvv@gmail.com

Abstract. 4-[(S)-2-Methyl-3-hydroxypropoxy]-4'-formylazobenzene, 4-(3-hydroxypropoxy)-4'-formylazobenzene, and μ -oxo dimer of iron 2,8,12,18-tetramethyl-3,7,13,17-tetra-n-amyldipyrromethane were synthesized using known methods. A mixture with a specified concentration of the synthesized compounds was prepared and used to impregnate a wide-pore adsorbent Chromaton N-AW. The degree of impregnation was 10%. The prepared adsorbent was used as the stationary phase for reversed gas-mesophase chromatography. Using the reversed gas chromatography method, the sorptive redistribution of a series of volatile organic compounds—methyl- and dimethylpyridine isomers, weakly polar xylenes, and enantiomers—was studied from the gas phase on the prepared adsorbent. During the experiment, specific retained volumes of sorbates, characterizing the sorptive activity of the prepared stationary phase, were calculated. Activity coefficients of sorbate distribution in the liquid layer of the liquid crystal were obtained for structural isomers. To confirm the data on sorptive activity, thermodynamic parameters of the dissolution of specific isomers were found. Conclusions were made regarding the influence of enthalpy and entropy factors on the retention capacity of the sorbates. The influence of structure, isomerism, intermolecular interactions, and the addition of a macrocycle on the sorptive characteristics of sorbates is discussed. Analytical sorption features were evaluated, and maximum values of separation factors for structural and optical isomers, as well as for compounds with different structures but close boiling points, were calculated. It was experimentally established that the prepared adsorbent exhibits sufficiently high capability for separating structurally similar isomers with close boiling points and moderate capability for enantiomer separation. Special attention was given to the maximum separation factor for 3,4- and 3,5-lutidines, which was higher than that of previously developed stationary phases of similar structure. The application of the prepared adsorbent in an integrated chemical analysis system is justified.

Keywords: gas chromatography, liquid crystal, macrocycle, mesophase, activity coefficient, separation factor, sorptive activity, sorbate, adsorbent.

УДК 543.544.3:632.95:631.558.3:332.368

ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ γ-ГЕКСАХЛОРЦИКЛОГЕКСАНА В СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУРАХ

© 2024 г. Д. Э. Мусабинов^{a, b, *}, Р. А. Даукаев^a, Д. О. Каримов^a, В. Ю. Гуськов^b

^aУфимский Научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека,
ул. Кувыкина, 94, Республика Башкортостан, 450106 Уфа, Россия

^bУфимский университет науки и технологий,
ул. Заки Валиди, 32, Республика Башкортостан, 450076 Уфа, Россия

*E-mail: 30102000@rambler.ru

Поступила в редакцию 11.01.2024 г.

После доработки 02.02.2024 г.

Принята к публикации 05.02.2024 г.

Работа посвящена изучению распределения γ-гексахлорциклогексана в репе и свекле между их плодами, ботвой и кожурой. Методика пробоподготовки, рекомендованная ГОСТ, дополнена использованием жидкого азота для более глубокого измельчения и разрушения клеток растений. Обнаружено, что применение жидкого азота при постоянстве остальных параметров эксперимента приводит к 2–3-кратному росту количества определяемого количества пестицида. Установлено, что распределение γ-ГХЦГ в растениях неравномерно: наибольшая концентрация пестицида обнаружена в кожуре, в то время как в ботве содержание γ-ГХЦГ наименьшее. Показано, что в кожуре свеклы пестицид накапливается лучше, чем в кожуре репы, для ботвы закономерность обратная, а накопление γ-ГХЦГ в плодах этих корнеплодов близко по величине. Полученные данные могут быть полезны для служб аналитического контроля качества сельскохозяйственных продуктов.

Ключевые слова: γ-гексахлорциклогексан, газовая хроматография, жидкий азот, загрязнение почвы.

DOI: 10.31857/S0044450224080065, EDN: tjgqro

Хлорорганические пестициды (ХОП) используют для борьбы с вредителями в сельском хозяйстве, садоводстве, лесном хозяйстве и др. [1]. Хлорорганические пестициды относятся к классу стойких органических загрязнителей [2, 3]. Среди них можно выделить полихлорированные дифенилы (ПХД), гептахлор, дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) и гексахлорциклогексан (ГХЦГ). Остаточные количества ХОП обнаружены в различных экосистемах и образцах биологического происхождения по всему миру вследствие низкой скорости разложения ГХЦХ [4–7]. Перечисленные выше загрязнители характеризуются длительным периодом полураспада в окружающей среде [8, 9].

Гексахлорциклогексан существует в виде восьми изомеров: α, β, γ, δ, ε, ζ, η и θ, отличающихся конформацией цикла и некоторыми физическими и химическими свойствами. Изомеры гексахлорциклогексана устойчивы к воздействию концентрированных кислот и окислителей,

а также света. Коммерческий ГХЦГ доступен в двух формах: гексахлорциклогексан технического класса, содержащий в себе все изомеры, и линдан. Последний представляет собой очищенный и сконцентрированный γ-изомер, более опасный для окружающей среды [10]. Ранее ГХЦХ использовался как инсектицид, но был запрещен Стокгольмской конвенцией из-за своих токсических свойств и способности накапливаться в тканях организмов [11, 12]. Важно отметить, что среди изомеров ГХЦГ выраженной инсектицидной активностью обладает только γ-изомер. Несмотря на запрет, некоторые страны до сих пор используют γ-ГХЦГ по экономическим причинам. В связи с этим аналитический контроль содержания ГХЦХ как в различных экосистемах (вода, почва), так и в тканях растений и животных остается важной задачей экологического мониторинга.

Количество информации по накоплению/поглощению хлорорганических пестицидов в овощах ограничено [13–16]. Так, в работе [13]

исследовано содержание ХОП в томатах. Сбор анализируемых проб происходил на разных этапах роста растения. Обнаружено, что наибольшее содержание пестицидов приходится на корни и стебель, а в плодах и листьях содержание ХОП ниже, в мякоти плодов содержание токсиантов выше, чем в кожуре. Данные по накоплению γ -ГХЦГ в кожуре, ботве и плодах свеклы и репы в литературе отсутствуют. Представляет интерес исследовать способность данных овощей к накоплению γ -ГХЦГ как в плодах, так и в ботве, поскольку последняя может использоваться в качестве корма для животных.

В России определение остаточных количеств хлорорганических пестицидов в овощах и фруктах регулирует межгосударственный стандарт ГОСТ 30349-96 [17]. Данная методика обладает существенным недостатком – разрушение клеток в процессе измельчения образца является неполным, что приводит к систематической погрешности на стадии жидкостно-твердофазной экстракции.

Настоящая работа посвящена определению содержания γ -ГХЦГ в различных частях корнеплодов, выращенных в естественных условиях. При планировании пробоподготовки анализируемой пробы в качестве базового варианта использовали методику из ГОСТ 30349-96: экстракцию γ -ГХЦГ этилацетатом из измельченного растительного сырья с последующей очисткой экстракта концентрированной серной кислотой, упариванием его досуха и растворением в *n*-гексане перед газохроматографическим определением. Обычно ХОП присутствуют в образцах в весьма низких концентрациях, и их определение осложняется матричными эффектами и предварительной обработкой образцов. Повышение чувствительности аналитических методов определения остаточных количеств аналитов в сложных матрицах является объективной необходимостью. Для повышения полноты извлечения γ -ГХЦГ из клеток в данной работе предложено при измельчении образцов использовать предварительное охлаждение жидким азотом аналогично методике [18]. Кроме того, при экстракции анализируемых образцов использовали воздействие ультразвука. Следует отметить, что ультразвуковая экстракция – распространенный метод экстракции органических загрязнителей из твердых матриц [19, 20]. Оценивали распределение γ -ГХЦГ в растениях, для этого определяли его содержание в ботве, кожуре и плоде.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оборудование и реактивы. В качестве экстрагента выбрали этилацетат ч. (ГОСТ 22300-79, АО “ЭКОС-1”, Россия) как классический растворитель для извлечения хлорорганических

пестицидов из овощей и фруктов. Для растворения сухого остатка использовали *n*-гексан ос. ч. (ТУ 2631-001-54260861-2013, ООО “Криохим”, Россия). Экстрагируемое вещество – стандартный образец пестицида γ -гексахлорциклогексана (ГСО 8890-2007, массовая доля γ -ГХЦГ (линдана) – 99.1%, ООО “НПАЦ Эколан”, Россия). Кроме того, использовали сульфат натрия безводный х. ч. (ГОСТ 4166-76, ООО “ХлоренХима”, Россия), гидрокарбонат натрия х. ч. (ГОСТ 4201-79, ООО “Кемикал элементс юкрейн”, Украина), серную кислоту ос. ч. для очистки экстракта (ГОСТ 14262-78, ООО “Сигма Тек”, Россия), жидкий азот ос. ч. (ГОСТ 9293-74, АО “Башкирское”, Россия).

В процедуре пробоподготовки применяли орбитальный шейкер OS-10, работающий в диапазоне 50–350 об/мин, ультразвуковую ванну Сапфир и испаритель ротационный IR-1-LT.

Для газохроматографического определения использовали газовый хроматограф Хроматэк-Кристалл 5000.2 с детектором электронного захвата (ЭЗД) и капиллярной колонкой CR-5 (состав фазы 5% фенил 95% диметилполисилоксан, длина 30 м, внутренний диаметр 0.32 мм, толщина пленки 0.5 мкм). Температура колонки 200°C, температура испарителя 240°C, температура детектора ЭЗД 250°C. Азот служил в качестве газа-носителя (давление – 90 кПа, поток – 1.67 мл/мин, деление потока – 1 : 21.7). Программное обеспечение газохроматографического комплекса – Хроматек Аналитик 2.6.

Предварительное концентрирование модельных образцов. В отдельных контейнерах были посажены два вида овощей (репа, свекла), по 30 образцов каждого вида. Используемую почву заранее проверяли на предмет отсутствия пестицидов. На стадии роста обрабатывали все образцы стандартным раствором хлорорганического пестицида: на росток высотой 8–10 см дозатором равномерно наносили разные объемы (5, 10 и 20 мл) стандартного водного раствора линдана. Далее в течение трех месяцев происходило созревание модельных образцов с периодическим поливом водой, проверенной на отсутствие пестицидов. Собранные образцы очищали от почвы, расфасовывали в полиэтиленовые пакеты с маркировкой и помещали на хранение при –20°C до начала исследования.

Для подготовки пробы к анализу использовали две методики, отличающиеся применением жидкого азота для улучшенного измельчения образца и разрушения клеток.

Пробоподготовка без применения жидкого азота. Модельный образец мыли и разделяли на три части: ботву, кожуру, плод. Каждую часть помещали в фарфоровый стакан и максимально возможно измельчали с помощью погружного блендера. Далее из полученного

Таблица 1. Результаты хроматографического определения γ -ГХЦГ, полученные по способу 1 пробоподготовки

Репка					Свекла				
c_0 , мкг/г	часть растения	c , мкг/г	R , %	s_r , %	c_0 , мкг/г	часть растения	c , мкг/г	R , %	s_r , %
0.345	Плод	0.007	2.1	0.4	0.345	Плод	0.008	2.2	0.5
	Ботва	0.005	1.6	0.3		Ботва	0.011	3.2	0.9
	Кожура	0.022	6.5	1.9		Кожура	0.018	5.1	1.2
0.581	Плод	0.006	1.1	0.4	0.581	Плод	0.040	7.0	0.6
	Ботва	0.014	2.5	0.5		Ботва	0.015	2.5	0.7
	Кожура	0.033	5.7	0.9		Кожура	0.042	7.3	1.5
1.360	Плод	0.020	1.5	0.3	1.360	Плод	0.031	2.3	0.3
	Ботва	0.007	0.5	0.2		Ботва	0.059	4.4	0.4
	Кожура	0.058	4.3	0.5		Кожура	0.061	4.5	0.7

Примечание: c_0 — концентрация пестицида в растворе для опрыскивания, c — найденная концентрация, R — полнота извлечения, s_r — относительное стандартное отклонение.

гомогенизированного образца отбирали массу навески (при концентрации добавки 0.345 мкг/г масса плода — 20.46 г, ботвы — 3.41 г, кожуры — 7.98 г; при концентрации добавки 0.581 мкг/г масса плода — 20.18 г, ботвы — 4.84 г, кожуры — 12.86 г; при концентрации добавки 1.36 мкг/г масса плода — 20.94 г, ботвы — 5.71 г, кожуры — 5.71 г) и на орбитальном шейкере экстрагировали тремя порциями этилацетата по 50 мл в течение 30 мин, выдерживали в ультразвуковой ванне в течение 10 мин. Полученный объединенный экстракт упаривали на ротационном испарителе досуха и растворяли сухой остаток в 10 мл *n*-гексана, затем растворенный остаток в делительной воронке емк. 100 мл очищали 20 мл серной кислоты, затем 10 мл 3%-ного раствора гидрокарбоната натрия и 10 мл дистиллированной водой.

Очищенный экстракт пропускали через слой безводного сульфата натрия, выдерживали экстракт на орбитальном шейкере в течение 5 мин и заново упаривали на ротационном испарителе досуха. Полученный сухой остаток растворяли в 10 мл *n*-гексана и вводили аликвоту пробы в газовый хроматограф с ЭЗД.

Пробоподготовка с применением жидкого азота. Пробоподготовку выполняли аналогично описанной выше за исключением следующего этапа: каждый образец в фарфоровом стакане не измельчали погружным блендером, а добавляли к образцу 100–150 мл жидкого азота в зависимости от степени заморозки анализируемого объекта. Затем проверяли степень заморозки путем дробления образца керамическим пестиком до мелкодисперсных частиц, таким образом

Таблица 2. Результаты хроматографического определения γ -ГХЦГ, полученные по способу 2 пробоподготовки

Репка					Свекла				
c_0 , мкг/г	часть растения	c , мкг/г	R , %	s_r , %	c_0 , мкг/г	часть растения	c , мкг/г	R , %	s_r , %
0.345	Плод	0.027	7.8	1.2	0.345	Плод	0.031	9.0	1.5
	Ботва	0.008	2.3	0.6		Ботва	0.009	2.6	0.7
	Кожура	0.044	12.8	1.4		Кожура	0.052	15.1	2.3
0.581	Плод	0.044	7.5	1.0	0.581	Плод	0.057	9.8	0.9
	Ботва	0.032	5.6	0.6		Ботва	0.024	4.1	1.0
	Кожура	0.119	20.4	1.4		Кожура	0.153	26.4	1.9
1.360	Плод	0.065	4.8	0.3	1.360	Плод	0.070	5.2	0.6
	Ботва	0.038	2.8	0.3		Ботва	0.028	2.1	0.4
	Кожура	0.116	8.5	0.3		Кожура	0.230	16.9	0.7

Примечание: c_0 — концентрация пестицида в растворе для опрыскивания, c — найденная концентрация, R — полнота извлечения, s_r — относительное стандартное отклонение.

полностью разрушая структуру для наилучшей экстракции аналита. Далее навеску измельченного и гомогенизированного образца экстрагировали и очищали по описанной выше методике.

Авторы неоднократно проверяли полноту извлечения аналита из образцов. Для этого проводили дополнительное экстрагирование анализируемой пробы (четвертое экстрагирование). Полученный экстракт отдельно анализировали на наличие остатков хлорорганического пестицида. Результаты анализа показали отсутствие сигнала на хроматограмме.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 и 2 приведены результаты экстракции γ -ГХЦГ из исследуемых модельных объектов репы и свеклы двумя способами, описанными выше. Анализ данных, полученных по методике без применения жидкого азота, показал, что как в свекле, так и в репе наибольшее количество пестицида содержится в кожуре. Так, концентрация γ -ГХЦГ в кожуре растет с увеличением количества исходного пестицида

и достигает содержания 0,058 мкг/г при концентрации добавляемого изначально пестицида 1,36 мкг/г. При этом содержание аналита в плоде и ботве меняется немонотонно. Аналогичные закономерности наблюдаются и в случае свеклы. Последняя, по данным табл. 1, накапливает γ -ГХЦГ несколько лучше репы за счет более высоких концентраций загрязнителя в плоде и ботве. Можно предположить, что объект, содержащий большее количество влаги, способен лучше накапливать в себе токсикант.

Зависимость полноты извлечения аналита от концентрации добавляемого стандартного раствора приведена на рис. 1. Обнаружено, что при увеличении исходной концентрации пестицида от 0,345 до 0,581 мкг/г полнота извлечения вещества из почвы растет. Дальнейшее увеличение концентрации исходного раствора приводит к снижению полноты извлечения пестицида. Данная закономерность проявляется как для репы, так и для свеклы. Таким образом, имеется определенный порог накопления пестицида, выше которого растения не могут накапливать в себе загрязнитель.

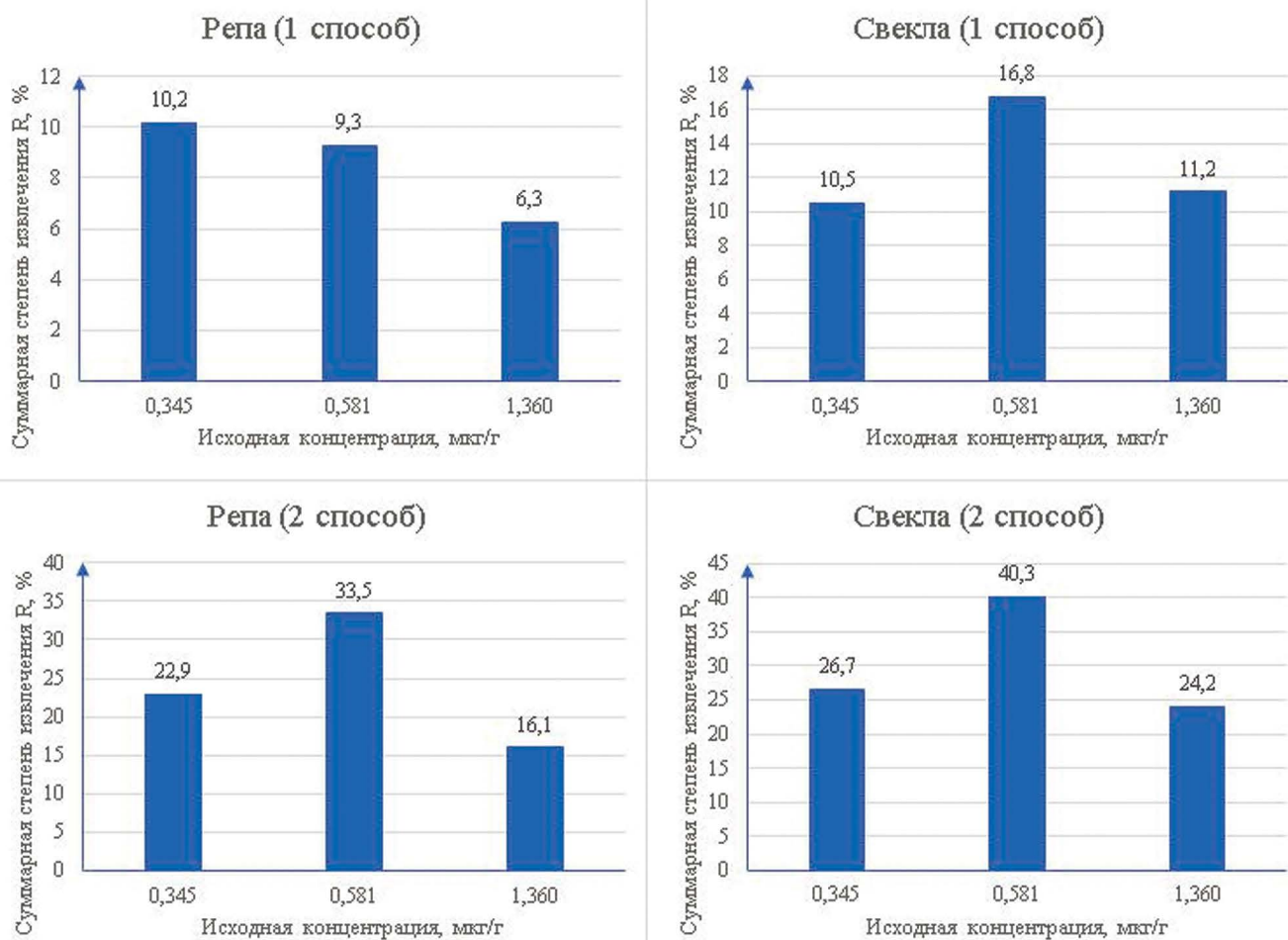


Рис. 1. Зависимость суммарной полноты извлечения от исходной концентрации.

Максимальное суммарное извлечение токсиканта из плода, ботвы и кожуры методом без применения жидкого азота для репы составило 10.2% при концентрации добавки 0.345 мкг/г, для свеклы 16.8% при концентрации 0.581 мкг/г. При применении жидкого азота на этапе пробоподготовки максимальное суммарное извлечение пестицида из репы и свеклы при концентрации 0.581 мкг/г составило 33.5 и 40.3% соответственно. Это сказывается и на определяемых концентрациях: так, в кожуре свеклы методом без применения жидкого азота максимальная концентрация γ -ГХЦГ составила 0.061 мкг/г, в то время как с применением жидкого азота — 0.230 мкг/г. Таким образом, данные, полученные по методике ГОСТ, оказались занижены в 2–4 раза. Это может быть связано с тем, что большая часть пестицида находится в клетках растений, которые плохо разрушаются при механическом измельчении образца, в то время как охлаждение жидким азотом позволяет разрушить подавляющую часть клеток и извлечь загрязнитель из внутриклеточного вещества. Ввиду того, что извлечение γ -ГХЦГ из исследуемых образцов не превышает 40.3%, можно утверждать, что большая часть пестицида остается в почве.

Применение жидкого азота в процедуре пробоподготовки позволило извлечь из объекта большее количество пестицида, а также получить более точные данные о распределении аналита в овоще. Так, по данным метода без применения жидкого азота накопление пестицида в различных частях корнеплода выглядит несколько иначе, чем по данным метода с применением жидкого азота. Помимо повышения эффективности извлечения, использование жидкого азота в процедуре подготовки упрощает стадию гомогенизации образца.

Данные, полученные с использованием жидкого азота для повышения полноты извлечения, свидетельствуют о том, что в репе наибольшее количество γ -ГХЦГ содержится в кожуре (табл. 2). В плоде содержание пестицида больше,

чем в ботве. Аналогичная закономерность наблюдается и для свеклы. Во всех случаях содержание загрязнителя с повышением исходной концентрации γ -ГХЦГ возрастает, однако эта зависимость нелинейна. Сравнение овощей показало, что свекла накапливает больше γ -ГХЦГ, чем репа в плоде и кожуре, в то время как репа — в ботве.

Для расчета ряда метрологических характеристик (показатель точности, повторяемость и воспроизводимость) для двух методик провели дополнительные измерения методом введено— найдено с использованием модельных образцов на примере репы (концентрирование гомогенизированных образцов путем внесения в них аналита). По каждой методике анализировали шесть модельных образцов, проводили по два параллельных измерения. В табл. 3 представлены полученные метрологические характеристики при $P = 0.95$. Диапазон определяемых концентраций γ -ГХЦГ для двух способов пробоподготовки согласно градуировочному графику составил (5×10^{-4}) –1.000 мкг/мл. Поверку газохроматографического комплекса проводили по компоненту линдан с концентрацией 5×10^{-5} мкг/мл, значения стандартного отклонения по времени удерживания, площади и высоте пика не превышали 4% (предел детектирования находился в пределах нормы для ЗЭД — $(2.7\text{--}2.9) \times 10^{-15}$ г/с).

Из табл. 3 видно, что метрологические характеристики для способа 2 пробоподготовки лучше, чем для способа 1. Следовательно, применение жидкого азота для пробоподготовки не только улучшает извлечение определяемого вещества из растений, но и позволяет повысить точность измерений.

Оценили потерю аналита для двух способов пробоподготовки. Способ пробоподготовки без применения жидкого азота показал среднее значение полноты извлечения 83% (в межгосударственном стандарте полнота извлечения для γ -ГХЦГ варьирует от 77 до 88%), в то время как применение жидкого азота позволило улучшить среднее значение полноты извлечения до 98%.

Таблица 3. Метрологические характеристики результатов определения γ -ГХЦГ для двух способов пробоподготовки ($n = 6$)

Способ пробоподготовки	Аттестованное значение СО, мкг/кг	Показатель повторяемости, σ_r , %	Показатель воспроизводимости, σ_R , %	Показатель точности, $\pm \delta$, %
Без жидкого азота (способ 1)	0.04	4	5	20
С жидким азотом (способ 2)		3	2	17

Примечание: СО — стандартный образец, σ_r — среднее квадратичное отклонение результатов единичного анализа, полученных в условиях повторяемости, σ_R — среднее квадратичное отклонение всех результатов анализа, полученных в условиях воспроизводимости, δ — значение неопределенности (границы, в которых погрешность измерений находится с заданной вероятностью $P = 0.95$).

* * *

Установлено, что классическая методика извлечения γ -ГХЦГ из растений в случае репы и свеклы приводит к как минимум в 2–4 раза заниженным результатам анализа. Решением данной проблемы может быть применение жидкого азота на этапе пробоподготовки для разрушения клеток растений. Также показано, что в наибольшей степени пестицид накапливается в кожуре, меньше токсиканта накапливается в плоде и наименьшую часть содержит ботва. Важно отметить, что большая часть токсиканта, нанесенного на исследуемые образцы, остается в почве после созревания плодов, что может привести к накоплению большого количества хлорорганического пестицида в будущих сельскохозяйственных культурах. Это необходимо учитывать при изучении путей миграции γ -ГХЦГ в экосистеме.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Федерального бюджетного учреждения науки Уфимского научно-исследовательского института медицины труда и экологии человека. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kaur R., Mavi G.K., Raghav S., Khan, I. Pesticides classification and its impact on environment // *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 2019. V. 8. № 3. P. 1889. <https://doi.org/10.20546/ijemas.2019.803.224>
2. Gong P., Xu H., Wang C., Chen Y., Guo L., Wang X. Persistent organic pollutant cycling in forests // *Nat. Rev. Earth Environ.* 2021. V. 2. № 3. P. 182. <https://doi.org/10.1038/s43017-020-00137-5>
3. Walker K., Vallero D.A., Lewis R.G. Factors influencing the distribution of lindane and other hexachlorocyclohexanes in the environment // *Environ. Sci. Technol.* 1999. V. 33. № 24. P. 4373.
4. Wondimu K.T., Geletu A.K. Residue analysis of selected organophosphorus and organochlorine pesticides in commercial tomato fruits by gas chromatography mass spectrometry // *Heliyon.* 2023. V. 9. № 3. Article e14121. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14121>
5. Zuo W., Lin Q., Liu X., Lv L., Zhang C., Wu S., et al. Spatio-temporal distribution of organochlorine pesticides in agricultural soils of southeast China during

- 2014–2019 // *Environ Res.* 2023. V. 232. Article 116274. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116274>
6. Adeleye A.O., Sosan M.B., Oyekunle J.A.O. Dietary exposure assessment of organochlorine pesticides in two commonly grown leafy vegetables in South-western Nigeria // *Heliyon.* 2019. V. 5. № 6. Article e01895. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01895>
7. Abhilash P.C., Jamil S., Singh V., Singh A., Singh N., Srivastava S.C. Occurrence and distribution of hexachlorocyclohexane isomers in vegetation samples from a contaminated area // *Chemosphere.* 2008. V. 72. № 1. P. 79. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.01.056>
8. Mackay D., Shiu W.Y., Ma K.C. Illustrated handbook of physical-chemical properties of environmental fate for organic chemicals // CRC Press. 2006. P. 4216. <https://doi.org/10.1201/9781420044393>
9. Mattina M.J., Iannucci-Berger W., Dykas L., Pardus J. Impact of long-term weathering, mobility, and land use on chlordane residues in soil // *Environ. Sci. Technol.* 1999. V. 33. № 14. P. 2425.
10. Willett K.L., Ulrich E.M., Hites R.A. Differential toxicity and environmental fates of hexachlorocyclohexane isomers // *Environ. Sci. Technol.* 1998. V. 32. № 15. P. 2197. <https://doi.org/10.1021/es9708530>
11. Afful S., Anim A.K., Serfor-Armah Y. Spectrum of organochlorine pesticide residues in fish samples from the Densu Basin // *Res. J. Environ. Earth. Sci.* 2010. V. 2. № 3. P. 133.
12. Ododo M.M., Wabalo B.K. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and their impacts on human health: A review // *J. Environ. Pollut. Hum. Health.* 2019. V. 7. № 2. P. 73.
13. Gonzalez M., Miglioranza K.S., Aizpún de Moreno J.E., Moreno V.J. Occurrence and distribution of organochlorine pesticides (OCPs) in tomato (*Lycopersicon esculentum*) crops from organic production // *J. Agric. Food Chem.* 2003. V. 51. № 5. P. 1353. <https://doi.org/10.1021/jf025892w>
14. Zhang A., Luo W., Sun J., Xiao H., Liu W. Distribution and uptake pathways of organochlorine pesticides in greenhouse and conventional vegetables // *Sci. Total. Environ.* 2015. V. 505. P. 1142. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.023>
15. Mikes O., Cupr P., Trapp S., Klanova J. Uptake of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides from soil and air into radishes (*Raphanus sativus*) // *Environ. Pollut.* 2009. V. 157. № 2. P. 488. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.09.007>
16. Simonich S.L., Hites R.A. Organic pollutant accumulation in vegetation // *Environ. Sci. Technol.* 1995. V. 29. № 12. P. 2905. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.023>
17. ГОСТ 30349-96. Методы определения остаточных количеств хлорорганических пестицидов. М.: Стандартинформ, 2008. С. 12.
18. ГОСТ ISO 14507-2015. Качество почвы. Предварительная подготовка проб для определения

- органических загрязняющих веществ. М.: Стандартинформ, 2019. С. 16.
19. *Albero B., Tadeo J.L., Pérez R.A.* Ultrasound-assisted extraction of organic contaminants // Trends Anal. Chem. 2019. V. 118. P. 739.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.07.007>
20. *Sajid M., Woźniak M.K., Płotka-Wasyłka J.* Ultrasound-assisted solvent extraction of porous membrane packed solid samples: A new approach for extraction of target analytes from solid samples // Microchem. J. 2019. V. 144. P. 117.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.08.059>

ORIGINAL ARTICLES

GAS CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS OF γ -HEXACHLOROCYCLOHEXANE DISTRIBUTION IN AGRICULTURAL CROPS

D. E. Musabirov ^{a, b, *}, R. A. Daukaev ^a, D. O. Karimov ^a, V. Y. Guskov ^b

^a Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, 450106 Ufa, Russia,

^b Ufa University of Science and Technology, 450076 Ufa, Russia

*E-mail: 30102000@rambler.ru

Abstract. The study focuses on investigating the distribution of γ -hexachlorocyclohexane in turnip and beetroot among their fruits, stems, and peels. The sample preparation method, recommended by GOST, is supplemented by using liquid nitrogen for more thorough grinding and cell disruption of plants. It has been found that the application of liquid nitrogen, while keeping other experimental parameters constant, leads to a 2-3-fold increase in the detectable amount of pesticide. It was established that the distribution of γ -HCH in plants is uneven: the highest concentration of the pesticide was found in the peel, while the stems showed the lowest γ -HCH content. It is shown that γ -HCH accumulates better in the peel of beetroot compared to turnip peel, with the opposite pattern observed for the stems. The accumulation of γ -HCH in the fruits of these root vegetables is similar in magnitude. The obtained data can be valuable for analytical quality control services of agricultural products.

Keywords: γ -hexachlorocyclohexane, gas chromatography, liquid nitrogen, soil contamination.

УДК 577.112.34:543.544.3

СИСТЕМАТИЗАЦИЯ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ТРИМЕТИЛСИЛИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ

© 2024 г. И. Г. Зенкевич^{a, *}

^aСанкт-Петербургский государственный университет, Институт химии,
Университетский просп., 26, Санкт-Петербург 198504, Россия

*E-mail: izenkevich@yandex.ru

Поступила в редакцию 30.08.2023 г.

После доработки 09.09.2023 г.

Принята к публикации 13.09.2023 г.

Систематизированы значения газохроматографических индексов удерживания (RI) триметилсилильных производных (ТМС) простейших аминокислот на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах. Такая обработка данных включает их объединение для производных одних и тех же аминокислот в зависимости от числа ТМС-групп (от одной до четырех) и вычисление средних значений RI вместе с их стандартными отклонениями, по данным различных источников информации. Эта форма представления результатов позволяет выявлять наиболее подробно охарактеризованные производные, а также оценить надежность известных для них индексов удерживания. На основании даже ограниченных данных для наиболее распространенных аминокислот сформирована простейшая аддитивная схема вычисления индексов удерживания для оценки их неизвестных значений, контроля ранее определенных величин и выявления ошибочных данных. Значение инкремента $DRI = RI(бис) - RI(моно)$ для преобразования $-CO_2Si(CH_3)_3 + -NH_2 \rightarrow -CO_2Si(CH_3)_3 + -NHSi(CH_3)_3$ хорошо воспроизводимо (118 ± 9). Значения другого инкремента $DRI = RI(трис) - RI(бис)$ различны для трансформаций $-NHSi(CH_3)_3 + XH \rightarrow -N[Si(CH_3)_3]_2 + XH$ (238 ± 35) и $-NHSi(CH_3)_3 + XH \rightarrow -NHSi(CH_3)_3 + -XSi(CH_3)_3$ (111 ± 16). Предложен способ контроля корректности полученных значений DRI.

Ключевые слова: Триметилсилильные производные аминокислот, систематизация индексов удерживания, аддитивная схема оценки индексов.

DOI: 10.31857/S0044450224080077, EDN: TNNZLJ

С момента появления инструментальных хроматографических методов разделения аминокислоты (АК) остаются одним из важнейших объектов анализа. Им посвящено настолько большое число публикаций, что целесообразно указать лишь некоторые из них [1–3]. Это обусловлено как значением таких аналитов в биохимии [4], так и особенностями подготовки проб. Для определения аминокислот в составе белков необходимой стадией является предварительный гидролиз полипептидов. Поскольку свободные аминокислоты в нейтральных средах представляют собой цвиттер-ионы ($H_3N^+ - CHR - CO_2^-$), то как в газовой, так и в высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)

требуется получение их производных для хроматографического разделения (derivatization), желательно по всем входящим в состав молекул амин-, карбоксильным и иным группам [5–8].

Число различных реагентов, предложенных для derivatization АК с целью их газохроматографического разделения, по-видимому, превышает их число для соединений других классов [2, 4–6]. Более того, как отмечено в “Энциклопедии хроматографии” [5, 6], их количество постоянно увеличивается. Опять-таки, не претендуя на полноту цитирования, в качестве одного из последних примеров можно привести такую рекомендацию, как селективное N-силилирование эфиров аминокислот триметилхлорсиланом

в присутствии цинковой пыли [9]. Представляет интерес одновременное образование алкиловых эфиров по карбоксильным и N-диметиламино-метиленовых производных по аминогруппам в результате реакции аминокислот с диалкилцетальми диметилформамида [10]. Заслуживает внимание получение триметилсилильных эфиров АК по группам $-\text{OH}$ и $-\text{CO}_2\text{H}$ одновременно с образованием N-перфторацильных производных [11] в результате обработки гексаметилдисилазаном в смеси с перфторкарбоновыми кислотами, а также многие другие примеры. Каждый из способов дериватизации имеет свои особенности, но такой вариант, как получение триметилсилильных производных АК, широко применяют до настоящего времени. Рекомендованное для этих целей число реагентов превышает несколько десятков [4–6].

Преимуществом получения триметилсилильных (ТМС) производных является использование одного реагента и протекание реакции в одну стадию в гомогенных средах, причем при соответствующем выборе реагентов их избытки не мешают регистрации сигналов продуктов. Слабые сигналы молекулярных ионов, по крайней мере для производных с небольшим числом ТМС-групп, регистрируются достаточно уверенно [12]. Однако они обладают важной особенностью [5, 6], на которую обратили внимание достаточно давно [13, 14], но на практике учитывают не всегда. Дело в том, что карбоксильные группы в составе АК образуют ТМС-эфиры при действии практически любых силилирующих реагентов, что нельзя сказать про аминогруппы. В зависимости от активности реагента, типа матрицы, стабильности производных [15], условий реакции и хранения проб, а также других факторов, возможно образование как N-моно-, так и N,N-бис-ТМС-производных с группами $-\text{NHSi}(\text{CH}_3)_3$ и $-\text{N}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$. Это нарушает взаимно однозначное соответствие ($1 \longleftrightarrow 1$) числа исходных анализов и продуктов их дериватизации [5], что может осложнить идентификацию АК в составе сложных образцов. Для моноаминомонокарбоновых кислот (даже для простейшей из них — глицина) степень неопределенности равна двум, но в случае диаминкарбоновых кислот и кислот, содержащих амидные фрагменты (лизин, аспарагин, глутамин), она значительно возрастает. Например, отмечено [5], что лизин, кроме моно-ТМС-эфира по группе $-\text{CO}_2\text{H}$, теоретически может образовывать восемь различных N-ТМС-производных.

Конечно же, не все они образуются с равной вероятностью, но это даже усложняет задачу их идентификации. Так, еще в 1970 г. было установлено [13], что основными ТМС-производными лизина оказываются *трис*- и *тетракис*-замещенные, которые можно различить просто по порядку их газохроматографического элюирования. Однако такая информация не устраняет полностью неопределенность результатов, так как для *трис*-ТМС-производных лизина существует три структурных изомера, а для *тетракис*- — два. Такие изомеры неразличимы по масс-спектрам, в отличие от производных с разным числом ТМС-фрагментов [12, 16].

Следовательно, при представлении результатов хромато-масс-спектрометрической идентификации АК в виде ТМС-производных необходимо учитывать следующие особенности таких анализов:

1. Поскольку молекулярные массы ТМС-производных АК определить удастся не всегда, то достаточно часто встречается форма записи “название аминокислоты — ТМС”. Это соответствует уровню так называемой групповой идентификации (подразумевает указание только химической природы анализа), так как соответствует неопределенному числу ТМС-фрагментов в молекуле, либо присутствию в молекуле их максимально возможного числа. Из многочисленных примеров такой формы записи результатов можно указать работы [17, 18].

2. Следующий “уровень” уточнения результатов газохроматографической идентификации ТМС-производных АК предполагает не установление числа ТМС-групп в молекулах, а указание последовательности элюирования различных ТМС-производных одних и тех же АК в форме “ТМС № 1”, “ТМС № 2” и т.д. Например, в публикации [19] находим “2-methylaspartic acid TMS № 1” и “2-methylaspartic acid TMS № 2”, причем их индексы удерживания (RI) равны 1556 и 1392 соответственно, т.е. не соответствуют увеличению их номеров. Для ТМС-производных валина № 1 и 2 значения RI указаны в правильной последовательности (1083 и 1239), но компоненту № 1 корректно приписана структура моно-ТМС эфира, а компоненту № 2 — ошибочная структура O,N,N-*трис*-ТМС-производного, которое не охарактеризовано до настоящего времени. Для двух ТМС-производных глутаминовой кислоты определены правильные значения RI (1528 и 1627), но для обоих соединений указана одна и та же структура

трис-ТМС производного. Перечисление подобных многочисленных несообразностей не следует воспринимать только как критику [20]; это, скорее, иллюстрация объективных сложностей идентификации ТМС-производных соединений с несколькими активными атомами водорода в составе разных функциональных групп.

3. Одновременное присутствие среди продуктов дериватизации АК *N-моно*- и *N,N-бис*-ТМС-производных АК обусловлено не прочностью связи N—Si (аддитивная оценка ее энергии в схеме Бенсона 355 кДж/моль превышает аналогичную оценку энергии связи C—C — 346 кДж/моль [21]), а легкостью гидролиза N-ТМС-производных следами воды. Следовательно, N-ТМС-производные (особенно *N,N-бис*-ТМС) отличаются, как правило, плохой сохранностью в пробах. Нестабильность ТМС-производных АК объясняет низкую воспроизводимость результатов их количественного определения. По классификации, предложенной в работе [15], часть АК (очень нестабильные) характеризуется относительными стандартными отклонениями площадей пиков на уровне 70–170% (!), тогда как умеренно нестабильные остальные — на уровне 15–50%. Иными словами, для количественных определений лучше выбирать не ТМС-, а другие производные аминокислот.

4. По указанным причинам при обнаружении в оригинальных работах примеров неконкретного представления данных о ТМС-производных АК при создании базы NIST [12], в которой каждому соединению соответствует структурная формула, в окончательную версию базы они попадали только в тех случаях, если по значениям RI их удавалось соотнести с конкретными структурами.

5. Таким образом, условие однозначности результатов индивидуальной идентификации ТМС-производных АК предполагает исключение ответов с неопределенным числом ТМС-групп. Известны многочисленные примеры использования именно такой формы представления данных [22–24]. Однако часто это сопровождается искусственными ограничениями числа структур в подобных перечнях. Примером такого подхода (одна структура некоторого ТМС-производного для каждой аминокислоты) является руководство [18], причем его труднодоступность для Российских читателей делает невозможным контроль приведенной в нем информации. Следовательно, если в образцах обнаруживаются другие ТМС-производные

аминокислот, не представленные в списках их производных, то это неизбежно приводит к отрицательным результатам идентификации.

Из перечисленного следует:

— хромато-масс-спектрометрическая идентификация ТМС-производных аминокислот без привлечения данных по индексам удерживания нерациональна, хотя известны примеры использования только массовых чисел характеристических ионов в масс-спектрах при определении ограниченного числа аминокислот [24];

— для эффективного использования информации по индексам удерживания необходима систематизация известных значений RI не только чаще всего определяемых ТМС-производных АК, но и всех теоретически возможных продуктов их дериватизации.

Настоящая работа посвящена систематизации индексов удерживания ТМС-производных аминокислот на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах и рассмотрению возможностей их оценки и контроля с использованием простейшей аддитивной схемы. Систематизация включает группирование индексов удерживания для производных, содержащих разное число ТМС-групп в молекуле, и их последующую статистическую обработку.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ. ВЫБОР ИСХОДНЫХ ДАННЫХ И ИХ ОБРАБОТКА

Значения RI ТМС-производных аминокислот на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах заимствованы из всех доступных литературных источников, включая [17, 22, 23, 25] (цитированы в настоящей работе), а с также сайта <http://webbook.nist.gov> (часть данных базы [12]). При отсутствии данных для указанных фаз дополнительно привлекали значения на так называемых *semi-standard* фазах (содержат 5% фенильных групп).

Стандартная статистическая обработка данных включала вычисление средних арифметических значений и соответствующих стандартных отклонений (в каждом случае указано число измерений, *N*). В интервалы $\langle RI \rangle \pm s_{RI}$ попадает в среднем 68% значений исходных выборок. Такая форма представления данных не эквивалентна статистической обработке в базе [12], в которой средние значения RI характеризуют

медианами ($m_{1/2}$), а их разброс — медианами абсолютных отклонений (MAD) [26, 27]. Следовательно, в интервалы $m_{1/2} \pm \text{MAD}$ попадает около 50% значений выборок, а $\text{MAD}(\text{RI}) < s_{\text{RI}}$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты систематизации и статистической обработки индексов удерживания триметилсилильных производных 21 наиболее распространенных и, следовательно, наиболее подробно охарактеризованных аминокислот на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах приведены в табл. 1.

Для каждой аминокислоты указаны ее молекулярное массовое число, трехбуквенное обозначение, перечислены группы с активными атомами водорода в молекуле и общее число активных атомов водорода (n_{H}). Например, для Ser такая запись имеет вид “ $(\text{CO}_2\text{H})(\text{NH}_2)(\text{OH}) - 4$ ”, Asp и Glu — “ $(\text{CO}_2\text{H})(\text{NH}_2)(\text{CONH}_2) - 5$ ”, а для аспарагиновой и глутаминовой кислот — “ $(\text{CO}_2\text{H})_2(\text{NH}_2) - 4$ ”. Значение n_{H} позволяет представить себе теоретически возможное число ТМС-производных для каждой АК. Однако в действительности такое соответствие достигается только при небольших значениях n_{H} . Например, образование *трис*-ТМС-производных моноаминокарбоновых кислот отмечено только для Gly, Ala, Ile, Met, OH-Pro, Phe ($n_{\text{H}} = 3$). *Бис*-ТМС-производное зафиксировано для Pro ($n_{\text{H}} = 2$), а *тетракис*- — для Cys ($n_{\text{H}} = 4$). Во всех остальных случаях полное замещение всех активных атомов водорода триметилсилильными фрагментами не всегда реализуется и поэтому для чаще всего обнаруживаемых производных $n(\text{TMC}) < n_{\text{H}}$.

Особенности индексов удерживания триметилсилильных производных аминокислот. Значения RI в табл. 1 предусмотрены для производных от *моно*- до *тетракис*-ТМС потому что только четыре АК характеризуются значениями $n_{\text{H}} > 4$: Asn, Gln, Lys и Arg. Однако необходимости увеличивать число граф нет, так как для *пентакис*-ТМС производных Asp, Gln и Lys данные отсутствуют, а значения RI *пентакис*-ТМС производного аргинина (1632 и 1640), скорее всего, ошибочны, так как не отличаются от значения 1632 для *тетракис*-ТМС-производного (см. обсуждение ниже). Экспериментальное определение числа ТМС-групп в случаях $4 < n(\text{TMC}) \leq 7$ весьма сложно, так как в масс-спектрах таких поли-ТМС-производных

сигналы молекулярных ионов практически отсутствуют. В каждой графе перед значением RI в скобках приведены молекулярные массовые числа соответствующих производных.

Форма представления данных в табл. 1 достаточно компактна, но в то же время позволяет сделать важные выводы о характере образующихся продуктов силилирования. Жирным шрифтом в таблице выделены данные для чаще всего обнаруживаемых производных, так что даже беглый взгляд на таблицу позволяет сразу их выявить. Вывод о частоте обнаружения немедленно следует на основании числа усредняемых значений индексов (N). Образование *бис*-ТМС-производных наиболее типично для 12 АК: Gly, Ala, Pro, Val, Leu, Ile, Met, Phe, Tyr, Asp, Trh и Trp, *трис*-ТМС- — для 11: Gly, Ser, Cys, OH-Pro, Asn, Asp, Lys, Gln, Thr, Glu и His. Одновременным образованием *бис*- и *трис*-производных (частоты обнаружения приблизительно одинаковы) характеризуются Gly, Thr и Asp. *Тетракис*-ТМС-производные зафиксированы только для аспарагина и лизина ($n_{\text{H}} = 5$); для лизина такие производные относятся к главным продуктам, что было впервые отмечено еще в 1970 г. [13]. Обращает на себя внимание отсутствие преобладающих продуктов дериватизации аргинина, для которого имеются ограниченные сведения ($N = 1-2$) об RI *моно*-, *бис*-, *трис*- и *тетракис*-ТМС-производных. Сложности образования ТМС-производных аргинина обусловлены, по-видимому, его максимальной основностью среди всех аминокислот ($pK_{\text{a}} = 13.8 \pm 0.1$, $pI = 10.8$ [28]), что связано с наличием в молекуле гуанидинового фрагмента.

Для девяти АК известны значения RI *моно*-ТМС-производных. В семи случаях (Gly, Ala, Pro, Cys, Ile, Met и Arg) это единичные значения, определенные непосредственно в лабораториях NIST [12]. Их образование возможно только в специальных экспериментах без использования избытков силилирующих реагентов. Однако для двух АК *моно*-ТМС-производные относятся к числу часто обнаруживаемых: лейцин ($N = 16$) и фенилаланин ($N = 13$). Рационального объяснения причин такой селективности *моно*-силилирования для Leu и Phe пока нет.

Кроме частот обнаружения в качестве еще одного показателя сложностей или неоднородностей образования ТМС-производных АК можно выбрать отсутствие для них значений RI в базе NIST. Как отмечено выше, это определяется не отсутствием литературных данных,

Таблица 1. Индексы удерживания различных триметилсилильных производных некоторых аминокислот на стандартных неполярных полидиметил-силоксановых неподвижных фазах (жирным шрифтом выделены данные для чаще всего обнаруживаемых производных)

Аминокислота	Мол. масса (обозначение)	Группы с активными ато- мами водорода – общее число активных атомов водорода	(Мол. масса) индексы удерживания, $RI \pm s_{RI}$ (N), значение в базе NIST [12]		
			моно-	бис-	трис-тетраakis-
Глицин	75 (Gly)	(CO ₂ H)(NH ₂) - 3	(147) 919 (1)	(219) 1118 ± 15 (11), 1105 ± 7 [12]	(291) 1316 ± 8 (24), 1317 ± 1 [12] a
Аланин	89 (Ala)	(CO ₂ H)(NH ₂) - 3	(161) 932 (1)	(233) 1106 ± 11 (26), 1110 ± 15 [12]	(305) 1367 ± 8, (2)
Серин	105 (Ser)	(CO ₂ H)(NH ₂)(OH) - 4	(177) -	(249) 1256 ± 3 (3), 1252 (1) [12]	(321) 1376 ± 15 (25), 1368 ± 1 [12] (393) -
Пролин	115 (Pro)	(CO ₂ H)(NH) - 2	(187) 1178 (1)	(259) 1302 ± 5 (3), 1302 ± 5 [12]	(333) -
Валин	117 (Val)	(CO ₂ H)(NH ₂) - 3	(189) -	(261) 1228 ± 17 (22), 1229 ± 4 [12]	(335) 1397 ± 11 (20), 1402 ± 2 [12] (407) -
Треонин	119 (Thr)	(CO ₂ H)(NH ₂)(OH) - 4	(191) -	(263) 1296 ± 9 (10)	(337) 1564 ± 9 (14), 1568 ± 6 [12] (409) 1969 (1)
Цистеин	121 (Cys)	(CO ₂ H)(NH ₂)(SH) - 4	(193) 1225 (1)	(265) -	(347) -
Лейцин	131 (Leu)	(CO ₂ H)(NH ₂) - 3	(203) 1168 ± 16 (2)	(275) 1283 ± 10 (37), 1279 ± 8 [12]	(347) 1328 (1)
Изолейцин	131 (Ile)	(CO ₂ H)(NH ₂) - 3	(203) 1178 ± 1 (2)	(275) 1305 ± 14 (39), 1301 ± 4 [12]	(347) 1537 ± 17 (7)
Гидроксипролин	131 (OH-Pro)	(CO ₂ H)(NH)(OH) - 3	(203) -	(276) ^b	(420) 1673 ± 10 (4) ^r 1863 (1)
Аспарагин ^b	132 (Asn)	(CO ₂ H)(NH ₂)(CONH ₂) - 5	(204) -	(277) 1423 ± 19 (3)	(349) 1518 ± 26 (6), 1544 ± 13 [12] (421) 1541 (1) ^d
Аспарагиновая кислота	133 (Asp)	(CO ₂ H) ₂ (NH ₂) - 4	(205) -		

Окончание табл. 1

Аминокислота	Мол. масса (обозначение)	Группы с активными атомами водорода число активных атомов водорода	(Мол. масса) индекс удерживания, RI $\pm$ s _{RI} (N), значение в базе NIST [12]		
			моно-	бис-	трис-тетраakis-
Глутамин ^б	146 (Gln)	(CO ₂ H)(NH ₂)(CONH ₂) - 5	(218) -	(290) 1640 (1)	(362) 1770 $\pm$ 4 (5) (434) 1996 (1)
Лизин ^б	146 (Lys)	(CO ₂ H)(NH ₂) ₂ - 5	(218) -	(290) -	(362) 1708 $\pm$ 18 (4) (362) 1847 $\pm$ 3 (2), 1718 (1) [12] (434) 1934 $\pm$ 17 (21)
Глутаминовая кислота	147 (Glu)	(CO ₂ H) ₂ (NH ₂) - 4	(219) -	(291) 1539 $\pm$ 17 (2), 1527 (1) [12]	(363) 1634 $\pm$ 12 (13), 1632 $\pm$ 3 [12] (435) 1770 $\pm$ 5 (5)
Метионин	149 (Met)	(CO ₂ H)(NH ₂) ₂ - 3	(221) 1416 (1)	(293) 1522 $\pm$ 11 (14), 1523 $\pm$ 5 [12]	(265) 1793 (1)
Гистидин	155 (His)	(CO ₂ H)(NH ₂)(NH) - 4	(227) -	(299) 1800 (1)	(371) 1924 $\pm$ 14 (10), 1917 $\pm$ 3 [12] (443) -
Фенилаланин	165 (Phe)	(CO ₂ H)(NH ₂) ₂ - 3	(237) 1556 $\pm$ 8 (13)	(309) 1630 $\pm$ 9 (23), 1625 $\pm$ 1 [12]	(381) 1769 (1)
Аргинин	174 (Arg)	(CO ₂ H)(NH ₂) ₂ (NH) ₂ - 7	(246) 1386 (1)	(318) 1590 (1)	(390) 1814 $\pm$ 1 (2) (462) 1632* (1)
<i>пентаkis-</i> (534) 1636 $\pm$ 6 (2), <i>гексаkis-</i> (606), <i>гептаkis-</i> (678)					
Тирозин	181 (Tyr)	(CO ₂ H)(NH ₂)(OH) - 4	(253) -	(325) 1893 (1) 1892 $\pm$ 9 [12]	(397) 1950 $\pm$ 11 (16), 1952 $\pm$ 2 [12] (469) -
Триптофан	204 (Trp)	(CO ₂ H)(NH ₂)(NH) - 4	(276) -	(348) 2210 $\pm$ 6 (3)	(420) 2215 $\pm$ 4 (2), 2213 $\pm$ 5 [12] (492) -

^аПустая графа соответствует невозможности образования производных, прочерк означает, что их существование возможно, но они не обнаружены и, следовательно, не охарактеризованы; ^бдля *пентаkis*-TMC аспаргина, глутамина и лизина данных нет; ^вдля *бис*-TMC аспаргина известны два значения RI (1543 и 1589), неудовлетворительно согласующиеся друг с другом; ^гдля *тетраakis*-TMC-аспаргина несколько известных значений RI соответствуют средней величине 1673 $\pm$ 10, что соответствует RI *трис*-TMC-производного. Только одно значение 1863 может быть приписано *тетраakis*-TMC-производному; ^дединственное известное значение RI *тетраakis*-TMC аспаргиновой кислоты (1541) в пределах погрешности не отличается от значения RI *трис*-TMC-производного (1518 $\pm$ 26) и, скорее всего, ошибочно; ^едля *трис*-TMC лизина известны не совпадающие друг с другом значения RI: 1708 (регистрируется чаще других) и 1847; ^ждва известных значения RI *пентаkis*-TMC аргинина (1632 и 1640, за пределами таблицы) не отличаются от значения RI *тетраakis*-TMC-производного (1632) и, скорее всего, ошибочны, как и величина RI = 1632, которая меньше значения для *трис*-TMC-производного (1814).

а невозможностью их однозначного соотнесения с конкретными структурами. Так, в базе NIST17 [12] нет сведений о RI любых ТМС-производных OH-Pro, Asn, Asp, Gln, Glu, Arg и Trp. Однако масс-спектры некоторых из них в базе представлены; в таких случаях вместо отсутствующих экспериментальных значений RI приведены их оценки по аддитивной схеме [29].

Комментарии к аддитивности индексов удерживания ТМС-производных аминокислот. Возможности формирования аддитивной схемы их оценок. Как правило, увеличение числа ТМС-фрагментов в молекулах закономерно приводит к увеличению индексов удерживания. Следовательно, представляет интерес возможность создания некоторой аддитивной схемы, которая была бы полезной как для оценки еще неизвестных значений RI, так и для проверки правильности уже существующих данных. Однако решение этой задачи затрудняет как присутствие в молекулах аминокислот дополнительных групп ($-\text{OH}$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$, $-\text{CONH}_2$), так и проявление стерических эффектов, которые в случае аминокислот могут быть достаточно неожиданными [30].

Здесь некоторых комментариев заслуживает вопрос: почему для оценки RI ТМС-производных аминокислот целесообразно выбрать именно простейшую аддитивную схему. По современным представлениям наибольшую точность оценок RI обеспечивают их корреляции с нормальными температурами кипения соединений разных таксономических групп (неаддитивный подход), поскольку точность определения $T_{\text{кип}}$ может превышать межлабораторную воспроизводимость индексов [31, 32]. Однако для ТМС-производных АК значения $T_{\text{кип}}$ при атмосферном давлении неизвестны, что сразу же означает неприменимость такого подхода. Большое число публикаций посвящено взаимосвязи хроматографических параметров удерживания и термодинамических характеристик аналитов (см., например, [33–37]). Однако относительно небольшая точность экспериментального определения термодинамических параметров привела к тому, что в подобных работах их обычно оценивают по хроматографическим данным, а не наоборот. В дополнение к этому необходимо заметить, что в последнее время значительно выросла “популярность” сложных алгоритмов оценок RI, основанных на принципах нейронных сетей [38, 39], равно как и более сложных (например, Gene Expression

Programming [40]). Однако сведения об их применении конкретно к триметилсилильным производным аминокислот отсутствуют и, следовательно, возможности простейших аддитивных схем далеко не исчерпаны. Такие схемы вполне могут быть “локальными”, т.е. ограничиваться достаточно узкой группой ТМС-производных аминокислот, поскольку попытки распространения вычислений на соединения любой химической природы приводят к снижению точности оценок. Так, например, оценки RI с использованием аддитивной схемы [29], приведенные в базе [12], для большинства ТМС-производных характеризуются доверительными интервалами ± 89 ед. инд. при доверительной вероятности 50% и ± 382 ед. инд. при доверительной вероятности 95%, что неприемлемо для практических целей.

Поскольку сами аминокислоты не могут являться объектами газохроматографического разделения из-за их цвиттер-ионной структуры, прежде всего следует проверить постоянство разностей индексов удерживания $\text{DRI} = \text{RI}(\text{бис}) - \text{RI}(\text{моно})$. Моно-ТМС-производные АК однозначно содержат фрагмент $-\text{CO}_2\text{Si}(\text{CH}_3)_3$, а бис- (при отсутствии других групп $-\text{OH}$) – фрагменты $-\text{CO}_2\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ и $-\text{NHSi}(\text{CH}_3)_3$. Наличие в молекулах иных функциональных групп может приводить к неопределенности локализации второго ТМС-фрагмента. Так, бис-ТМС-производные Ser, Thr, Tyr и OH-Pro вместо фрагмента $-\text{NHSi}(\text{CH}_3)_3$ содержат фрагменты $-\text{OSi}(\text{CH}_3)_3$, в случае ТМС цистеина образование S-ТМС или N-ТМС производных приблизительно равновероятно, а для таких аминокислот, как Asn, Lys, His и Arg положение второй группы $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ становится неопределенным.

Значения $\text{DRI} = \text{RI}(\text{бис}) - \text{RI}(\text{моно})$ ТМС-производных простейших аминокислот (глицин и аланин) значительно превышают (199 и 174) аналогичные значения для пяти остальных (число охарактеризованных моно-ТМС-производных ограничено), а для фенилаланина они занижены, что, скорее всего, обусловлено экранированием фрагмента $-\text{NHSi}(\text{CH}_3)_3$ объемистой фенильной группой. За вычетом этих исключений среднее значение $\text{DRI} = \text{RI}(\text{бис}) - \text{RI}(\text{моно})$ составляет 118 ± 9 ед. инд. Однако такая величина может представлять лишь ограниченный практический интерес для оценки RI еще не охарактеризованных моно-ТМС-производных АК по данным для лучше охарактеризованных бис-ТМС-производных. Например, для моно-ТМС валина получаем

$(1228 \pm 17) - (118 \pm 9) = 1110 \pm (17^2 + 9^2)^{1/2} \approx 19$. Главная эвристическая ценность такого результата в том, что он демонстрирует существование элементов аддитивности в индексах удерживания ТМС-производных АК.

Следующий “шаг” проверки аддитивности – характеристика разностей $DRI = RI(трис) - RI(бис)$, которые отчетливо разделяются на две подгруппы. Первую из них образуют аминокислоты, *трис*-ТМС-производные которых однозначно содержат структурный фрагмент $-N[Si(CH_3)_3]_2$: Gly ($DRI = 198$), Ala (261), Met (271) и, скорее всего, Arg (224). Их усреднение дает оценку 238 ± 35 (4). При этом, как и в предыдущем случае, значение этого инкремента для фенилаланина (139) значительно меньше, чем для остальных АК, из-за влияния стерических факторов. Если так, то для второй подгруппы (Ser, Thr, Asp, Gln, Glu, His) остается предположить присутствие двух структурных фрагментов $-NHSi(CH_3)_3$ и $-XSi(CH_3)_3$, где X = NH, N, O или S. Среднее значение DRI для этой подгруппы статистически значимо отличается от первого: 111 ± 16 (7). Аномально низкие значения $DRI = RI(трис) - RI(бис)$ выявлены для изолейцина ($DRI = 23$, единичное значение RI *трис*-ТМС изолейцина, скорее всего, ошибочно и исключено) и триптофана ($DRI = 5$, природа второго атома азота в составе индольного фрагмента существенно отличается от первого). Таким образом, значения инкрементов $DRI = RI(трис) - RI(бис)$ для вариантов $-NHSi(CH_3)_3 + XH \rightarrow -N[Si(CH_3)_3]_2 + XH$ и $-NHSi(CH_3)_3 + XH \rightarrow -NHSi(CH_3)_3 + -XSi(CH_3)_3$ принципиально различаются.

Самым неожиданным оказывается то, что даже весьма ограниченные данные для ТМС-производных АК позволяют проверить корректность двух полученных оценок $DRI = RI(трис) - RI(бис)$ 238 ± 35 и 111 ± 16 . Дело в том, что в табл. 1 отражен ранее не отмечавшийся факт, а именно наличие двух сильно различающихся величин RI для *трис*-ТМС лизина, а именно 1708 ± 18 (4) и 1847 ± 3 (2) (единственное значение в базе NIST [12] 1718), что свидетельствует о возможности образования его разных *трис*-ТМС производных. С учетом полученных выше оценок можно полагать, что большее из этих двух значений принадлежит O,N,N-*трис*-ТМС-производному (O,N₆N₆), а меньшее – O,N,N'-*трис*-ТМС-производному (O,N₂N₆). Если так, то мы можем оценить экспериментально не определенное до настоящего времени значение

RI *бис*-ТМС-лизина двумя независимыми способами, а именно вычитая из большей величины RI большее значение DRI и соответственно из меньшего – меньшее. Получаем:

$$(1847 \pm 3) - (238 \pm 35) \approx 1609 \pm 35,$$

$$(1708 \pm 18) - (111 \pm 16) \approx 1597 \pm 24.$$

Полученные независимые оценки DRI в пределах их погрешностей совпадают между собой и, следовательно, относятся к одному и тому же *бис*-ТМС-производному лизина (среднее значение обеих оценок – 1603).

Подобные вычисления можно продолжить и в сторону увеличения значений RI . Если мы переходим от *трис*-ТМС лизина к *тетра*-*кис*-ТМС-производному, то получаем:

$$(1847 \pm 3) + (111 \pm 16) \approx 1958 \pm 16,$$

$$(1708 \pm 18) + (238 \pm 35) \approx 1946 \pm 39.$$

Обе величины в пределах стандартных отклонений совпадают с экспериментальным значением 1934 ± 17 . Таким образом, возможности проверки предлагаемой аддитивной схемы непосредственно определяются характером массива исходных данных и подтверждают ее корректность. Правда, следует заметить, что на основании подобных оценок невозможно различить два изомерных *тетра*-*кис*-ТМС-производных лизина: O,N₂N₂N₆N₆- и O,N₂N₆N₆N₆-. Скорее всего, образование обоих производных приблизительно равновероятно.

К сожалению, попыткам продолжения формирования такой аддитивной схемы с оценками $DRI = RI(тетра) - RI(трис)$ препятствует объективно малое число известных значений RI *тетра*-*кис*-ТМС-производных (всего пять). При этом оказывается, что значения такого инкремента для Glu (226) и Lys (226) закономерно соответствуют величине $DRI = RI(трис) - RI(бис)$ для трансформации структуры $-NHSi(CH_3)_3 + XH \rightarrow -N[Si(CH_3)_3]_2 + XH$. Значение DRI для Cys оказывается аномально большим (405, что, видимо, определяется наличием группы $-SH$), а для *тетра*-*кис*-ТМС производных Asn и Arg они отрицательны, что заставляет усомниться в правильности для них значений RI . Однако нельзя отрицать полезность даже таких ограниченных оценок. Например, в примечаниях к табл. 1 отмечено, что единственное известное значение RI для

тетраakis-ТМС-производного аспарагиновой кислоты (1541) в пределах погрешности не отличается от значения *RI триc*-ТМС-производного (1518 ± 26). С высокой вероятностью оно ошибочно. Значение *RI* этого производного в соответствии со сформированной аддитивной схемой должно составлять $(1518 \pm 26) + (238 \pm 35) \approx 1756 \pm (26^2 + 35^2)^{1/2} \approx 44$.

Стоит обратить внимание, что значения стандартных отклонений полученных оценок *RI* достаточно велики, что является не недостатком аддитивной схемы, а, скорее, ее преимуществом. Они определяются исключительно разбросом известных справочных данных и не могут быть искусственно уменьшены.

Именно сравнение данных для различных ТМС-производных позволяет выявлять явно ошибочные значения *RI*, поскольку иными способами это сделать сложно. В первую очередь это относится к АК, которые могут образовывать производные с $n(\text{ТМС}) \geq 4$, в том числе Asp, Asn, Glu и Arg. Так, для аспарагиновой кислоты известно значение *RI тетраakis*-ТМС-производного (1541), которое совпадает со значением *RI триc*-ТМС-производного (1544) [12], и поэтому его следует считать ошибочным. Для аргинина известно значение *RI тетраakis*-ТМС-производного (1632) меньше *RI триc*-ТМС-производного (1814), но совпадает с данными для *пентаkis*-ТМС-производного (1632, 1640). Очевидно, что эти значения не могут принадлежать *тетра*- и *пентаkis*-производным, однако установить точное число и положение ТМС-групп в молекуле по этим данным не представляется возможным. Весьма сложный случай выявлен для аспарагина, у которого большая часть известных значений *RI тетраakis*-ТМС-производного (1673 ± 10) не отличается от *RI триc*-ТМС Asp (1681 ± 10) и, следовательно, ошибочна. Только одно значение $1863 > 1681$ можно полагать корректным, и оно может быть приписано *тетраakis*-ТМС-производному. Таким образом, такой критерий, как число независимо определенных значений *RI*, нельзя считать надежным во всех случаях. Объективной причиной подобных ошибок оказывается невозможность установления количества триметилсилильных групп по масс-спектрометрическим данным. Подобные примеры иллюстрируют как сложность рассматриваемой проблемы, так и необходимость систематизации индексов удерживания ТМС-производных аминокислот

как самостоятельную и нередко достаточно трудоемкую задачу.

Комментируя статистически обработанные индексы удерживания, следует заметить, что при их дополнении новыми данными как средние значения *RI*, так и их стандартные отклонения могут незначительно изменяться (различия не выходят за пределы стандартных отклонений). Этот эффект хорошо заметен при сравнении информации для одних и тех же соединений в различных выпусках базы данных [12] (2005, 2008, 2011, 2014, 2017, 2020 и 2023 гг.).

* * *

Таким образом, систематизацию известных газохроматографических индексов удерживания (*RI*) различных соединений на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах (на примере триметилсилильных производных аминокислот), включающую группирование значений *RI* разных производных одних и тех же аминокислот по числу триметилсилильных групп в молекуле и их последующую статистическую обработку, следует считать важнейшей стадией контроля справочных газохроматографических данных. Получение простейших аддитивных оценок индексов даже на основании ограниченных массивов данных представляет значительный интерес для оценки еще неизвестных значений *RI*, проверки правильности существующих данных, а также выявления ошибочных значений.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Финансирование настоящей работы осуществлялось за счет средств бюджета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования “Санкт-Петербургский государственный университет”, Институт химии. Дополнительных грантов на проведение или руководство этим конкретным исследованием получено не было.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор данной работы заявляет, что у него нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сунозова Е.В., Трубников В.И., Сакодынский К.И. Газовая хроматография аминокислот. М.: Наука, 1976. 83 с.

2. CRC Handbook of Chromatography. Amino Acids and Amines / Ed. Blackburn S. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 1989. 424 p.
<https://doi.org/10.1201/9781003210337>
3. Molnar-Perl I. Quantitation of Amino Acids and Amines by Chromatography: Methods and Protocols. Amsterdam: Elsevier, 2005. 655 p. (J. Chromatogr. Series. V. 70).
4. Engel M.H., Hare P.E. Gas-liquid chromatographic separation of amino acids and their derivatives / Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids / Ed. Barrett G.C. Dordrecht: Springer, 1985. Ch. 16. P. 462.
https://doi.org/10.1007/978-94-009-4832-7_16
5. Derivatization of analytes in chromatography: General aspects / Encyclopedia of Chromatography. 3rd Ed. / Ed. Cazes J. New York: Taylor & Francis, 2010. V. 1. P. 562.
6. Amines, amino acids, amides and imides: Derivatization for GC analysis / Encyclopedia of Chromatography. 3rd Ed. / Ed. Cazes J. New York: Taylor & Francis, 2010, V. 1. P. 50.
7. Amino acids: HPLC analysis / Encyclopedia of Chromatography. 3rd Ed. / Ed. Cazes J. New York: Taylor & Francis, 2010. V. 1. P. 67.
8. Amino acids: HPLC analysis advanced techniques / Encyclopedia of Chromatography. 3rd Ed. / Ed. Cazes J. New York: Taylor & Francis, 2010. V. 1. P. 73.
9. Babu V.V.S., Vasanthakumar G.-R., Tantry S.J. N-Silylation of amines and amino acids esters under neutral conditions employing TMS-Cl in the presence of zinc dust // Tetrahedron Lett. 2005. V. 46. P. 4099.
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.04.007>
10. Зенкевич И.Г., Пушкарёва Т.И. Хроматографическая и хромато-масс-спектрометрическая характеристика производных аминокислот, образующихся при их взаимодействии с диметилацеталем диметилформамида // Журн. общ. химии. 2015. Т. 85. № 8. С. 1365.
<https://doi.org/10.1134/S107036325080204>
(Zenkevich I.G., Pushkareva T.I. Chromatographic and chromat-mass-spectral characterization of amino acids derivatives formed vis the interaction with dimethylacetal of dimethylformamide // Russ. J. Gen. Chem. 2015. V. 85. № 8. P. 1918.)
11. Fodor B., Csampai A., Molnar-Perl I. Hexamethyldisilazane and perfluorocarboxylic acid couples achieve trialkylsilylation and acylation of active proton containing organics in a single step // Microchem. J. 2020. V. 154. Article 104554. 7 p.
12. The NIST Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH EI MS Library, 2017 Release). Software/Data Version; NIST Standard Reference Database, Number 69, August 2017. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899:
<http://webbook.nist.gov> (дата обращения: сентябрь 2023 г.).
13. Bergstrom K., Gurtler J., Blomstrand R. Trimethylsilylation of amino acids: I. Study of glycine and lysine TMS derivatives with gas-liquid chromatography – mass spectrometry // Anal. Biochem. 1970. V. 34. № 1. P. 74.
[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(70\)90088-6](https://doi.org/10.1016/0003-2697(70)90088-6)
14. Bergstrom K., Gurtler J. Trimethylsilylation of amino acids: II. Gas chromatographic and structural studies on TMS derivatives of straight chain amino acids // Acta Chem. Scand. 1971. V. 25. P. 175.
15. Quero A., Jousse C., Lequart-Pillon M., Goutier E., Guillet X., Courtois B. et al. Improved stability of TMS derivatives for the robust quantification of plant polar metabolites by GC-MS // J. Chromatogr. B. 2014. V. 970. P. 36.
<https://doi.org/10.1016/j.ichromb.2014.08.040>
16. Engel B., Suralik P., Marchetti-Deschmann M. Critical consideration for trimethylsilyl derivatives of 24 primary metabolites measured by gas chromatography – tandem mass spectrometry // SSC Plus. 2020. V. 3. № 9. P. 407.
<https://doi.org/10.1002/sscp.202000025>
17. Isidorov V.A., Bagan R., Szczepaniak L., Swiecicka I. Chemical profile and antimicrobial activity of extractable compounds of *Betula litwinowii* (Betulaceae) buds // De Gruyter Open Chem. 2015. V. 13. P. 125.
<https://doi.org/10.1515/chem.-2015-0019>
18. Isidorov V.A. GC-MS of Biologically and Environmentally Significant Organic Compounds. TMS-Derivatives. Hoboken, USA: J. Wiley & Sons, 2020. 720 p.
19. Lee B.Y., Yanamandra K., Thurmon T.F. Quantitative estimation of organic analytes with a capillary column // Amer. Clin. Lab. 2002. № 5. P. 30.
20. Zenkevich I.G. Prevention of a dangerous tendency in the presentation of the results of GC-MS identification // Anal. Bioanal. Chem. 2013. V. 405. P. 3075.
<https://doi.org/10.1007/s00216-013-6751-2>
21. Benson S.W. III. Bond energies // J. Chem. Educ. 1965. V. 42. № 9. P. 502.
<https://doi.org/10.1021/ed042-p502>
22. Gajewski E., Dizdaroglu M., Simic M.G. Kovats indices of trimethylsilylated amino acids on fused-silica capillary columns // J. Chromatogr. 1982. V. 249. P. 41.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)90231-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)90231-9)
23. Kempa S., Hummel J., Schwemmer T., Pitzke M., Strehmel N., Wiankoop S. et al. An automatic GCxTOF-MS protocol for batch-wise extraction and alignment of mass isotopomer matrixes from differential ¹³C-labeling experiments // J. Basic Microbiol. 2009. V. 49. № 1. P. 82.
<https://doi.org/10.1002/jobm.200800337>
24. Choi H., Moon J.-K., Seo J.-S., Kim J.-H. Establishment of retention index library on gas chromatography – mass spectrometry for non-targeted metabolite profiling approach // J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 2013. V. 56. P. 87.
<https://doi.org/10.1007/s13763-012-2376-y>
25. Bani Rashaid A.H., Jackson G.P., Harrington P. de B. Quantification of amino acids on human hair by trimethylsilyl derivatization gas chromatography / mass

- spectrometry // Enliven Archive (www.enlivenarchive.org). 2014. V. 1. № 1. 12 p.
26. *Rousseeuw P. J., Croux C.* Alternatives to the median absolute deviation // *J. Am. Stat. Assoc.* 1993. V. 88. № 424. P. 1273.
<https://doi.org/10.1080/01621459.1993.10476408>
 27. *Howell D.C.* Median absolute deviation / Wiley Stat. Ref: Statistic Reference Online, 2014.
<https://doi.org/10.1002/9781118445112.stat06232>
 28. *Fitch C.A., Platzer G., Okon M., Garcia-Moreno E.B., McIntosh L.P.* Arginine: Its pK_a value revisited: pK_a value of arginine // *Protein Sci.* 2015. V. 24. № 5. P. 752.
<https://doi.org/10.1002/pro.2647>
 29. *Stein S.E., Babushok V.I., Brown R.L., Linstrom P.J.* Estimation of Kovats retention indices using group contributions // *J. Chem. Inf. Model.* 2007. V. 47. P. 975.
<https://doi.org/10.1021/ci600548y>
 30. *Zenkevich I.G., Todua N.G., Mikaia A.I.* Unusual regularity in GC retention of simple amino acid derivatives // *Current Chromatogr.* 2019. V. 6. P. 1. doi: 10.2174/2213240606666/90709/100858
 31. *Zenkevich I.G., Kuznetsova L.M.* A new approach to the prediction of GC retention indices from physico-chemical constants // *Collect. Czech. Chem. Commun.* 1991. V. 56. № 10. P. 2042.
 32. *Zenkevich I.G.* Reciprocally unambiguous conformity between GC retention indices and boiling points within two- and multidimensional taxonomic groups of organic compounds // *J. High Resolut. Chromatogr. Commun.* 1998. V. 21. № 10. P. 565.
 33. *Dose E.V.* Simulation of gas chromatographic retention and peak width using thermodynamic retention indices // *Anal. Chem.* 1987. V. 59. № 19. P. 2414. doi: 10.1021/ac00146a020
 34. *Ciazynska-Halarewicz K., Kowalska T.* Mathematical model of solute retention in gas chromatography as sources of thermodynamic data. Part I. Methyl-n-alkyl ketones as the test analytes // *J. Chromatogr. Sci.* 2002. V. 40. № 9. P. 421.
<https://doi.org/10.1093/chromsci/40.8.421>
 35. *Kowalska T., Heberger K., Gordenyi M.* Temperature dependence of Kovats indices in gas chromatography. Explanation of empirical constants by use of transition-state theory // *Acta Chromatogr.* 2003. № 13. P. 60.
 36. *Karolat B., Harynik J.J.* Prediction of gas chromatographic retention times via an additive thermodynamic model // *J. Chromatogr. A.* 2010. V. 1217. P. 4862.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.05.037>
 37. *Портнова С.В., Ямщикова Ю.Ф., Красных Е.Л.* Характеристики удерживания и энтальпии сорбции эфиров природных гидроксикарбоновых кислот на неподвижной фазе DB-1 // *Журн. физ. химии.* 2019. Т. 93. № 3. С. 464.
<https://doi.org/10.1134/S0036024419020213>
 38. *Idroes R., Noviandy T.R., Maulana A., Syhendra R., Sasmita N.R., Muslem M. et al.* Application of genetic algorithm – multiple linear regression and artificial neural network determination for prediction of Kovats retention index // *Int. Rev. Model. Simulat.* 2021. V. 14. № 2. P. 137.
<https://doi.org/10.15866/iremos.v14i2.20460>
 39. *Qu C., Schneider B.I., Kearsley A.J., Keyrouz W., Allison T.C.* Predicting Kovats retention indices using graph neural networks // *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1646. Article 462100.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462100>
 40. *Zhang X., Shi L., Ding L., Sun Z., Song L., Qu H., Sun T.* Study on quantitative structure – retention relationships (QSRR) for oxygen-containing organic compounds based on gene expression programming (GEP) // *J. Chromatogr. Sep. Tech.* 2015. V. 6. № 7. P. 1.
<https://doi.org/10.4172/2157-7064.1000306>

SYSTEMATIZATION OF THE GAS-CHROMATOGRAPHIC PARAMETERS OF TRIMETHYLSILYL DERIVATIVES OF AMINO ACIDS

I. G. Zenkevich^{a, *}*St. Petersburg State University, Institute for Chemistry, 198504, St. Petersburg, Russia***E-mail: izenkevich@yandex.ru*

Abstract. The gas-chromatographic retention indices (RIs) of trimethylsilyl (TMS) derivatives of the simplest amino acids on standard nonpolar polydimethylsiloxane stationary phases were systematized. This processing of data included combining them for derivatives of the same amino acids depending on the number of TMS groups (from one to four) and calculating average RI values together with their standard deviations based on data from various sources of information. This form of presenting the results made it possible to identify the best characterized derivatives and evaluate the reliability of the retention indices known for them. The simplest additive scheme for calculating retention indices based on even limited data for the most common amino acids was formed to estimate their unknown values, control previously determined values, and identify erroneous data. The increment $\Delta RI = RI(\text{bis}) - RI(\text{mono})$ for the transformation $-\text{CO}_2\text{Si}(\text{CH}_3)_3 + -\text{NH}_2 \rightarrow -\text{CO}_2\text{Si}(\text{CH}_3)_3 + -\text{NHSi}(\text{CH}_3)_3$ was well reproducible (118 ± 9). The other increments $\Delta RI = RI(\text{tris}) - RI(\text{bis})$ were different for the transformations $-\text{NHSi}(\text{CH}_3)_3 + \text{XH} \rightarrow -\text{N}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2 + \text{XH}$ (238 ± 35) and $-\text{NHSi}(\text{CH}_3)_3 + \text{XH} \rightarrow -\text{NHSi}(\text{CH}_3)_3 + + -\text{XSi}(\text{CH}_3)_3$ (111 ± 16). A method for monitoring the correctness of the obtained values of ΔRI was proposed.

Keywords: trimethylsilyl derivatives of amino acids, systemization of retention indices, additive scheme for evaluating indices.

УДК 543.544.3:004.85

СЛОЖНОСТИ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПРОДУКТОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ХЛОРИРОВАНИЯ ИНДАНА

© 2024 г. И. Г. Зенкевич^{а,*}, Е. В. Елисеенков^а, А. И. Уколов^б

^аСанкт-Петербургский государственный университет, Институт химии
Университетский просп., 26, 198504, Санкт-Петербург, Россия

^бНаучно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека
Федерального медико-биологического агентства России

г.п. Кузьмоловский, 188663, ст. Капитолово 93, Ленинградская обл., Россия

*E-mail: izenkevich@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.10.2023 г.

После доработки 03.11.2023 г.

Принята к публикации 03.11.2023 г.

На примере продуктов свободнорадикального хлорирования индана (для сравнения упомянуты данные для тетралина) показано, что в результате хромато-масс-спектрометрического анализа могут быть установлены только их молекулярные формулы и на этом основании детализирован механизм реакции. Уточнение структуры компонентов требует интерпретации их газохроматографических индексов удерживания в форме локальных аддитивных схем, создаваемых для решения рассматриваемой конкретной задачи. Если такие схемы сформированы на основании данных для объектов, содержащих все структурные элементы молекул характеризуемых соединений, то они достаточно надежны. Если же это условие не выполняется (как в рассматриваемом случае), то возможность интерпретации индексов удерживания принципиально сохраняется, но точность их оценок существенно снижается, а объем предварительных вычислений значительно увеличивается. Ключевым фрагментом структуры хлорпроизводных индана, практически не представленным среди охарактеризованных до настоящего времени соединений, является атом хлора в алициклическом фрагменте структуры в α -положении к ароматической системе. Вторичные хлорпроизводные образуются в результате дегидрохлорирования первичных продуктов реакции с последующим присоединением хлора по двойным связям $C=C$.

Ключевые слова: индан, свободнорадикальное хлорирование, хромато-масс-спектрометрическая идентификация продуктов, индексы удерживания, сложности применения аддитивных схем.

DOI: 10.31857/S0044450224080089, EDN: tjgnqg

Возможности современной хромато-масс-спектрометрии как самого информативного метода идентификации компонентов сложных смесей органических соединений определяются наличием и доступностью подробного, хорошо систематизированного информационного обеспечения – стандартных масс-спектров ионизации электронами (ИЭ) и газохроматографических индексов удерживания на стандартных неподвижных фазах (RI). Например, версия 2023 г. базы данных NIST [1] содержит 347 100, масс-спектров ИЭ и значения RI около 153 тысяч соединений. Интересной особенностью аналогичных баз оказывается не только эффективность идентификации представленных

в них соединений, но и возможность выявления недостаточно подробно охарактеризованных в настоящее время соединений (групп аналогов, классов и т.п.). Характеристика именно таких соединений масс-спектрами и хроматографическими параметрами наиболее актуальна.

Лимитирующей стадией формирования баз справочных значений RI является доступность включаемых в них соединений. Наибольших затрат времени при необходимости требует их целенаправленный синтез. В отдельных случаях если возможно структурно-детерминированное получение производных органических соединений, то расширение баз как масс-спектров, так и значений RI допустимо без препаративного

изолирования аналитов [2]. Подобный прием используют в том числе для триметилсилильных производных соединений с активными атомами водорода, например аминокислот [3, 4]. Несмотря на такие возможности, быстрое увеличение массивов справочных данных представляется проблематичным. Так, если сравнить объем версии 2023 г. базы данных NIST [1] с версией 2020 г., то видно, что скорость ее формирования существенно замедлилась. Это придает особую актуальность совершенствованию способов оценки индексов удерживания на основании структур аналитов. В последнее время весьма “популярны” алгоритмы с использованием различных топологических дескрипторов молекул (QSRR), основанные на принципах нейронных сетей, и еще более сложные [5–9]. Тем не менее необходимо заметить, что возможности простейших аддитивных схем далеко не исчерпаны [10, 11]. Дело в том, что в самообучающихся алгоритмах (типа нейронных сетей) детали алгоритмов вычислений фактически скрыты от пользователей. В том числе сложно “отследить” следующий факт: если рассматриваемые аналиты содержат структурные фрагменты, не имеющие аналогов среди ранее охарактеризованных объектов, то можно полагать, что оценки их индексов удерживания с использованием сколь угодно сложных алгоритмов окажутся ненадежными.

Почти не охарактеризованные представители встречаются даже среди относительно несложных соединений, например продуктов регионеселективных реакций свободнорадикального хлорирования различных субстратов, приводящих к образованию многокомпонентных смесей конгенеров и изомеров. Препаративное изолирование отдельных компонентов таких смесей осложнено многообразием продуктов реакций и сходством их физико-химических свойств. В результате многие из них остаются неохарактеризованными до настоящего времени, причем это относится не только к масс-спектрам и газохроматографическим индексам удерживания, но и к значениям основных физико-химических параметров. Важно отметить, что в ходе хромато-масс-спектрометрического анализа масс-спектры таких компонентов могут быть зарегистрированы, но из-за отсутствия справочных данных их невозможно соотнести с конкретными структурами и, следовательно, они фактически бесполезны. В подобных ситуациях существенно возрастает значение расчетных значений индексов удерживания.

В качестве примеров хромато-масс-спектрометрической идентификации с привлечением различных способов интерпретации газохроматографических данных можно привести идентификацию продуктов свободнорадикального

хлорирования циклогексана [12], алкилароматических углеводородов [13], алифатических кетон [14] и диалкиловых эфиров [15]. Отдельного упоминания заслуживает такое соединение, как метил-*трет*-бутилкетон, поскольку индексы удерживания продуктов его хлорирования неаддитивны [11], но тем не менее могут быть эффективно использованы. Еще более сложную задачу представляет собой идентификация продуктов хлорирования углеводородов, содержащих арильные и алициклические фрагменты структуры, поэтому на нее необходимо обратить особое внимание. Настоящая работа посвящена особенностям и сложностям идентификации продуктов свободнорадикального хлорирования индана.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы и растворители. Субстраты для реакций хлорирования – индан (95%, Alfa Aesar, Великобритания) и тетралин (98%, Реахим, Москва, Россия) для предварительной очистки пропускали (по 1 мл) через микроколонки (длина 9 см, внутренний диаметр 0.6 см.), заполненные силикагелем (Merck, 60 Å, 230–400 меш). Растворитель (CCl_4 , Вектон, Санкт-Петербург, Россия) высушивали CaCl_2 и перегоняли при атмосферном давлении. Раствор хлора в сухом CCl_4 получали барботированием Cl_2 через промывную склянку, заполненную концентрированной серной кислотой, а затем через CCl_4 (100 мл) при комнатной температуре. Концентрацию хлора в полученном растворе определяли методом йодометрического титрования [16].

Фотохимическое хлорирование индана и тетралина проводили в условиях, аналогичных условиям фотохлорирования циклогексана [12]. При фотохлорировании углеводородов молекулярным хлором в разбавленных растворах в CCl_4 вследствие клеточного эффекта уже при незначительных конверсиях субстрата образуются ди- и трихлорпроизводные [17, 18]. Растворы субстратов в CCl_4 (0.5 М, 4 мл) помещали в двугорлую колбу объемом 25 мл с обратным холодильником и через стеклянный капилляр барботировали слабый поток (8–12 мл/мин в течение 6–10 мин) сухого аргона для удаления из реакционной смеси следов кислорода. С помощью пипетки добавляли в реакционную смесь рассчитанное количество раствора хлора в CCl_4 (концентрация 0.99 М) и облучали УФ-светом (лампа ДРА-400 на расстоянии 25 см от реакционного сосуда) в течение 5–18 мин при комнатной температуре при барботировании через реакционную смесь 5–7 мл/мин сухого аргона. Постоянный поток аргона перемешивал реакционную смесь и удалял образующийся HCl . Мольное соотношение субстрат : молекулярный

хлор в разных опытах варьировали от 1 : 1 до 1 : 4. По окончании хлорирования (определяли по отсутствию окрашивания при нанесении микрокапли (3–5 мкл) реакционной смеси на влажную йодокрахмальную бумажку) через реакционную смесь в течение 10–15 мин продували сухой аргон со скоростью 10–16 мл/мин для удаления HCl. Реакционные смеси анализировали без дополнительной обработки.

Хромато-масс-спектрометрический анализ смесей продуктов хлорирования индана и тетралина проводили на хроматографе HP-5890 с масс-селективным детектором HP-5972 и WCOT-колоной длиной 30 м и внутренним диаметром 0.25 мм с неподвижной фазой HP-5 (толщина пленки фазы 0.25 мкм) в режиме линейного программирования температуры от 30 до 280°C, температура испарителя 220°C, температура детектора 280°C. Объем проб 1 мкл, деление потока газа-носителя 1 : 10. Для определения индексов удерживания в образцы добавляли смесь реперных *n*-алканов C₆–C₂₀ (гомологи только с четным числом атомов углерода в молекуле). Линейно-логарифмические индексы рассчитывали с использованием программы QBasic.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Особенности свободнорадикального хлорирования индана. Выше отмечено, что хлорпроизводные индана (C₉H_{10-x}Cl_x) относятся к практически не охарактеризованным до настоящего времени соединениям. Так, значения

физико-химических свойств известны только для 1-моноклорзамещенного (*T*_{кип} 229, *d*₄²⁰ 1.08–1.15, *n*_D²⁰ 1.556–1.570) и 1,2-дихлорзамещенного (*d*₄²⁰ 1.254, *n*_D²⁰ 1.596). Для сравнения можно заметить, что в ряду хлортетралинов даже единичных данных найти не удалось, хотя для *транс*-1,2- и *транс*-2,3-дихлортетралинов известны значения дипольных моментов (1.61 и 1.69 D соответственно [19]). Такая же ситуация наблюдается для хлорпроизводных индена (C₉H_{8-x}Cl_x), обнаруженных среди продуктов хлорирования индана. Интересно, что некоторые представители этих рядов коммерчески доступны (сайт molport.com/shop/molecular-formula/...), например, в ряду моноклоринданов – все четыре возможных изомера, а в ряду моноклоринденов – 2-, 5-, 6- и 7-изомеры.

Низкую степень охарактеризованности хлорпроизводных индана и индена с $1 \leq n_{\text{Cl}} \leq 4$ справочными данными для хромато-масс-спектрометрической идентификации отражает табл. 1. Для соединений этих групп база [1] содержит всего два масс-спектра и ни одного значения RI, а для некоторых молекулярных формул серии C₉H_{10-x}Cl_x и вовсе нет никаких сведений. Это означает, что идентификация продуктов хлорирования индана прямым сопоставлением их масс-спектров или индексов удерживания со справочными данными невозможна. В последней графе табл. 1 приведено число изомерных продуктов хлорирования с разным числом атомов хлора в молекуле; отдельно указано число изомеров без учета продуктов хлорирования в ароматическое ядро.

Таблица 1. Число хлорпроизводных индана и индена, охарактеризованных масс-спектрами и газохроматографическими индексами удерживания, в сравнении с их метилзамещенными аналогами

Количество заместителей в молекуле (x)	Мол. масса	Число масс-спектров в базе [1]	Число индексов удерживания в базе [1]	Мол. масса	Число масс-спектров в базе [1]	Число индексов удерживания в базе [1]	Число структурных изомеров
Хлоринданы C ₉ H _{10-x} Cl _x				Метилинданы			
1	152	1	0	132	4	4	4 (2)**
2	186	1	0	146	8	7	14 (4)
3	220	0	0	160	7	4	24 (4)
4	254	—*	—	174	5	5	45 (4)
Хлориндены C ₉ H _{8-x} Cl _x				Метилиндены			
1	150	0	0	130	3	3	7 (3)
2	184	—	—	144	4	1	22 (4)
3	218	0	0	158	2	0	29 (3)
4	252	—	—	172	0	0	50 (1)

* Прочерк здесь и далее означает отсутствие в базе [1] любых соединений с указанными молекулярными формулами; ** в скобках указано число изомеров без учета Ag-замещенных.

Исходные результаты хромато-масс-спектрометрического анализа (масс-спектры и индексы удерживания) реакционных смесей продуктов свободнорадикального хлорирования индана приведены в табл. 2. Для сравнения (без дальнейшего подробного рассмотрения) в табл. 3 приведены аналогичные результаты для

продуктов хлорирования тетралина, представляющие интерес для обсуждения особенностей реакции. По приведенным данным можно установить только молекулярные формулы продуктов хлорирования, поскольку интерпретация их индексов удерживания невозможна именно из-за отсутствия справочной информации.

Таблица 2. Исходные хромато-масс-спектрометрические данные для компонентов реакционной смеси свободнорадикального хлорирования индана ($RI\ 1023 \pm 8$)

RI	$S_{отн}$	$(m/z)^{100}$	Мол. масса, число атомов хлора	Молекулярная формула
1216 (1196)*	0.2	115	150 Cl ₁	C ₉ H ₇ Cl
	Масс-спектр:** 152(8), 151(4), 150(23) M*** , 116(10), 115(100) , 114(4), 113(4), 89(8), 88(4), 87(3), 75(4), 74(3), 65(10), 63(10), 62(6), 57(15) , 50(4)			
1296	< 0.1	149	184 Cl ₂	C ₉ H ₆ Cl ₂
1362 (1359)	1.4	115	186 Cl ₂	C ₉ H ₈ Cl ₂
	188(6), 186(13) M , 153(21), 152(8), 151(70), 116(23), 115(100) , 113(3), 89(9), 87(3), 75(8), 74(3), 65(4), 63(11), 62(5), 57(36) , 51(5), 50(5)			
1378 (1382)	5.2	149	184 Cl ₂	C ₉ H ₆ Cl ₂
	186(12), 185(3), 184(19) M , 152(3), 151(31), 150(11), 149(100) , 114(12), 113(10), 88(4), 87(4), 86(4), 74(20) , 73(3), 63(9), 62(5), 61(3), 56(13), 50(3)			
1388 (1396)	8.1	115	186 Cl ₂	C ₉ H ₈ Cl ₂
	188(5), 186(10) M , 153(3), 152(9), 151(78), 149(3), 116(21), 115(100) , 113(4), 89(10), 88(3), 87(3), 75(11), 65(4), 63(12), 62(6), 57(38) , 51(5), 50(5)			
1403 (1411)	1.6	149	184 Cl ₂	C ₉ H ₆ Cl ₂
	188(2), 187(2), 186(14), 185(4), 184(22) M , 152(3), 151(32), 150(10), 149(100) , 114(11), 113(10), 87(4), 86(3), 75(6), 74(18) , 73(4), 63(7), 62(4), 61(3), 56(10), 50(3)			
1405	1.3	131	218 Cl ₃	C ₉ H ₅ Cl ₃ + неидентифицированный компонент
	220(2), 218(2) M , 185(11), 183(17), 168(9), 167(3), 166(28), 132(10), 131(100) , 130(9), 129(4), 113(3), 104(5), 103(45), 102(21), 101(5), 77(24), 76(11), 75(9), 74(10), 73(3), 65(6), 63(8), 62(5), 61(3), 52(5), 51(38) , 50(22)			
1421	1.3	183	218 Cl ₃	C ₉ H ₅ Cl ₃
	222(2), 220(9), 218(9) M , 187(10), 186(6), 185(64), 184(11), 183(100) , 150(4), 149(4), 148(11), 147(5), 129(3), 113(18), 110(3), 109(2), 97(4), 93(5), 92(4), 91(13), 87(6), 86(6), 85(3), 75(5), 74(17) , 63(9), 62(5), 61(4), 56(14) , 50(4)			
1438	3.4	115	186 Cl ₂	C ₉ H ₈ Cl ₂
	188(5), 186(10) M , 165(7), 153(27), 152(10), 151(85), 149(4), 129(5), 116(22), 115(100) , 113(3), 101(4), 89(8), 87(3), 76(3), 75(10), 74(4), 65(5), 63(11), 62(6), 57(39) , 51(7), 50(7)			
1460 (1476)	20.5	185	220 Cl ₃	C ₉ H ₇ Cl ₃
	220(1.4) M , 189(10), 188(6), 187(63), 186(14), 185(100) , 152(5), 151(34), 150(17), 149(96), 116(5), 115(46), 114(16), 113(11), 92(5), 89(7), 88(5), 87(7), 86(5), 76(4), 75(45) , 73(4), 65(3), 63(15), 62(9), 61(4), 58(8), 57(33) , 55(3), 51(5), 50(7)			
1484	0.4	185	220 Cl ₃	C ₉ H ₇ Cl ₃
	224(5), 222(16), 220(17) M , 189(10), 188(6), 187(63), 186(11), 185(100) , 152(6), 151(30), 150(21), 149(86), 116(7), 115(60), 114(14), 113(10), 92(4), 89(9), 88(5), 87(6), 86(4), 76(5), 75(48) , 73(6), 65(4), 63(16), 62(10), 61(4), 58(11), 57(16) , 56(10), 55(3), 51(5), 50(8)			

RI	$S_{\text{отн}}$	$(m/z)^{100}$	Мол. масса, число атомов хлора	Молекулярная формула
1508 (1509)	8.6	185	220 Cl ₃	C ₉ H ₇ Cl ₃
	224(3), 222(10), 220(12) M , 189(10), 188(5), 187(63), 186(13), 185(100) , 152(6), 151(28), 150(20), 149(85), 116(5), 115(53), 114(14), 113(9), 93(3), 92(3), 89(8), 88(4), 87(6), 86(4), 76(3), 75(49) , 73(4), 65(3), 63(15), 62(9), 61(3), 58(7), 57(32) , 51(5), 50(6)			
1538 (1543)	14.0	219	254 Cl ₄	C ₉ H ₆ Cl ₄
	256(1.4), 254(1.2) M , 225(3), 224(3), 223(30), 222(9), 221(96), 220(11), 219(100) , 187(8), 186(9), 185(47), 184(15), 183(74), 151(18), 150(9), 149(56), 148(10), 147(4), 123(3), 114(17), 113(22), 110(3), 109(3), 99(3), 97(4), 93(12), 92(33), 88(3), 87(8), 86(7), 85(3), 75(16), 74(53) , 73(10), 63(14), 62(9), 61(6), 57(7), 56(21) , 51(3), 50(6)			
1562 (1563)	1.9	185	220 Cl ₃	C ₉ H ₇ Cl ₃
	224(5), 222(13), 220(17) M , 189(10), 188(5), 187(64), 186(15), 185(100) , 184(7), 183(3), 152(6), 151(32), 150(20), 149(98), 116(6), 115(62), 114(13), 113(10), 92(5), 89(11), 88(6), 87(7), 86(5), 85(3), 75(57) , 73(4), 65(5), 63(19), 62(11), 61(4), 57(41) , 55(3), 51(5), 50(8)			
1596 (1600)	0.6	219	254 Cl ₄	C ₉ H ₆ Cl ₄
	258(1), 256(3), 254(3) M , 225(4), 224(3), 223(30), 222(8), 221(93), 220(10), 219(100) , 187(7), 186(16), 185(36), 184(24), 183(54), 152(3), 151(30), 150(12), 149(72), 148(8), 147(3), 123(4), 114(20), 113(22), 110(5), 109(5), 99(4), 97(5), 92(49), 88(4), 87(8), 86(8), 75(20), 74(41) , 73(12), 63(16), 62(10), 61(6), 57(5), 56(22) , 51(5), 50(7)			
1612 (1615)	27.6	219	254 Cl ₄	C ₉ H ₆ Cl ₄
	258(1), 256(2), 254(2) M , 225(3), 224(3), 223(30), 222(8), 221(92), 220(12), 219(100) , 187(7), 186(10), 185(35), 184(16), 183(54), 151(19), 150(9), 149(58), 148(7), 114(17), 113(17), 110(4), 109(3), 99(3), 97(4), 92(43), 88(4), 87(7), 86(6), 85(3), 75(13), 74(37) , 73(9), 63(14), 62(8), 61(5), 57(7), 56(17) , 51(3), 50(6)			
1631	0.3	219	254 Cl ₄	C ₉ H ₆ Cl ₄
	260(3), 258(8), 257(3), 256(17), 254(12) M , 225(4), 224(4), 223(28), 222(9), 221(99), 220(13), 219(100) , 189(7), 188(4), 187(24), 186(13), 185(59), 184(25), 183(82), 152(5), 151(26), 150(11), 149(79), 148(7), 116(3), 115(8), 114(25), 113(25), 111(4), 110(6), 109(4), 99(6), 97(5), 93(12), 92(45), 88(6), 87(9), 86(7), 85(4), 75(36), 74(40) , 73(9), 63(19), 62(13), 61(6), 58(3), 57(13), 56(21) , 51(7), 50(9)			
1651	0.6	187	222 Cl ₃	C ₉ H ₉ Cl ₃ – примесь хлорпроизводного углеводорода C ₉ H ₁₂
1712 (1718)	0.7	219	254 Cl ₄	C ₉ H ₆ Cl ₄
	258(2), 256(2), 254(2) M , 225(3), 224(5), 223(29), 222(10), 221(92), 220(14), 219(100) , 189(6), 188(3), 187(17), 186(13), 185(49), 184(21), 183(75), 152(4), 151(25), 150(9), 149(71), 148(7), 147(3), 123(3), 225(7), 114(18), 113(20), 111(3), 110(5), 109(4), 99(4), 97(4), 92(50), 88(5), 87(9), 86(7), 85(4), 75(18), 74(43) , 73(10), 63(18), 62(11), 61(6), 57(10), 56(15) , 55(6), 51(6), 50(8)			
1746	0.5	253	288 Cl ₅	C ₉ H ₅ Cl ₅
1754	0.4	221	288 Cl ₅	C ₉ H ₅ Cl ₅

Сумма: 98.5%

* В скобках указаны индексы удерживания основных компонентов реакционной смеси по данным газохроматографического анализа (условия приведены в публикации [12]; **масс-спектры $[m/z \geq 50]$ (Iотн $\geq 3\%$) приведены для компонентов с относительными площадями пиков не менее 0.3–0.5%; ***символом М обозначены сигналы молекулярных ионов; жирным шрифтом выделены максимальные сигналы и сигналы двухзарядных ионов.

Таблица 3. Исходные хромато-масс-спектрометрические данные для компонентов реакционной смеси свободнорадикального хлорирования тетралина (RI 1147 ± 11)

RI	$S_{\text{отн}}$	$(m/z)^{100}$	Мол. масса, число атомов хлора	Молекулярная формула или результат идентификации
1186 (1170)*	35.0	128	128	Нафталин
1364 (1368)	0.6	129	164 Cl ₁	C ₁₀ H ₉ Cl
	Масс-спектр**: 166(12), 164(43) M*** , 162(8), 130(9), 129(100) , 128(54), 127(36), 126(9), 102(5), 78(3), 77(9), 75(7), 74(5), 64(22) , 63(19), 62(5), 52(3), 51(20), 50(8)			
1380	3.3	162	162 Cl ₁	2-Хлорнафталин****
1386	27.6	162	162 Cl ₁	1-Хлорнафталин****
1515	1.1	129	200 Cl ₂	C ₁₀ H ₁₀ Cl ₂
	202(4), 200(8) M , 165(10), 164(11), 138(3), 131(7), 130(42), 129(100) , 128(48), 127(22), 116(3), 115(20), 103(3), 102(10), 101(4), 89(4), 78(5), 77(7), 76(3), 75(4), 69(3), 65(5), 64(22) , 63(16), 52(5), 51(23), 50(5)			
1552 (1550)	2.8	128	198 Cl ₂	C ₁₀ H ₈ Cl ₂
	202(2), 200(4), 198(7) M , 196(9), 165(5), 164(5), 130(10), 129(54), 128(100) , 127(19), 126(12), 125(4), 115(5), 102(10), 101(5), 99(3), 98(3), 87(3), 78(3), 77(7), 76(5), 75(6), 74(6), 65(4), 64(16) , 63(15), 62(4), 51(21), 50(9)			
1566	5.4	196	196 Cl ₂	C ₁₀ H ₆ Cl ₂ , Дихлорнафталин
	200(10), 199(8), 198(57), 197(11), 196(100) M , 163(9), 162(10), 161(22), 160(8), 127(4), 126(29), 125(11), 100(3), 99(14), 98(17) , 87(4), 86(5), 85(4), 81(3), 80(7), 76(4), 75(8), 74(9), 63(10), 62(8), 61(5), 51(4), 50(7)			
1680 (1654)	4.6	128	234 Cl ₃	C ₁₀ H ₉ Cl ₃
	238(2), 237(2), 236(5), 234(6) M , 201(6), 200(3), 199(12), 166(4), 165(24), 164(16), 163(62), 162(29), 130(3), 129(34), 128(100) , 127(57), 126(14), 125(3), 115(4), 102(12), 101(6), 99(3), 98(3), 89(3), 81(91) , 78(4), 77(8), 76(6), 75(10), 74(8), 68(3), 64(58) , 62(5), 61(4), 52(3), 51(22), 50(11)			
1724	0.8	128	234 Cl ₃	C ₁₀ H ₉ Cl ₃
1736	1.6	128	234 Cl ₃	C ₁₀ H ₉ Cl ₃
(1950)	4–15*****	—	—	C ₁₀ H ₈ Cl ₄

Сумма: 83%

*В скобках указаны индексы удерживания основных компонентов реакционной смеси по данным газохроматографического анализа (условия приведены в публикации [12]); **масс-спектры [$m/z \geq 50$ ($I_{\text{отн}} \geq 3\%$)] приведены только для компонентов с относительными площадями пиков не менее 0.3–1.0%; ***символом **M** обозначены сигналы молекулярных ионов; жирным шрифтом выделены максимальные сигналы спектров; ****изомерные хлорнафталины идентифицированы по порядку элюирования; *****вариации содержания компонента в разных образцах.

Сопоставление даже молекулярных формул обнаруженных соединений позволяет выявить детали процессов хлорирования. Так, в реакционных смесях хлорирования индана (C₉H₁₀), помимо ожидаемых продуктов серии C₉H_{10-x}Cl_x ($x \leq 4$), обнаружены относительно небольшие количества шести хлорпроизводных индана (C₉H₈) с молекулярными формулами C₉H_{8-x}Cl_x ($x \leq 3$). Суммарная относительная площадь их пиков составляет всего 9.7%. Если рассмотреть такую характеристику, как селективность состава реакционных смесей, равную числу компонентов,

суммарная относительная площадь пиков которых превышает 50% [20], то в случае хлорирования индана она равна трем. Для сравнения здесь можно упомянуть смеси продуктов хлорирования тетралина (C₁₀H₁₂), в которых хлорпроизводные самого тетралина C₁₀H_{12-x}Cl_x ($x \leq 4$) составляют от 10 до 21% (в разных образцах). Основными же оказываются даже не хлорпроизводные дигидронафталина C₁₀H₁₀ с молекулярными формулами C₁₀H_{10-x}Cl_x ($x \leq 2$), а незамещенный нафталин (35.0%) и продукты его дальнейшего хлорирования: 1-хлорнафталин

(27.6%) и один из изомеров дихлорнафталина (5.4%). Селективность состава такой реакционной смеси равна двум. Это означает, что первичные продукты свободнорадикального хлорирования подвергаются дегидрохлорированию, за чем следует присоединение хлора по образующимся двойным связям $C=C$ и вновь дегидрохлорирование (схема 1).

Индану подобная схема превращений свойственна в меньшей степени. В отличие от арилциклоалканов, такая последовательность процессов нехарактерна, например для хлорирования циклогексана [12]. Однако подобные превращения могут происходить как в реакционных смесях, так и в нагретом испарителе хроматографа при дозировании проб. Уточнение этого факта требует дополнительных экспериментов, которые выходят за рамки настоящей работы. Именно по причине этой неопределенности хлорирование тетралина упомянуто лишь для сравнения с хлорированием индана без подробного рассмотрения. Возможность термической деструкции продуктов хлорирования индана и тетралина в ходе их газохроматографического анализа была отмечена еще в середине 1970-х гг. [21, 22] при использовании насадочных колонок, менее инертных по сравнению с современными капиллярными. В первую очередь это относится к изомерам, содержащим хлор при sp^3 -гибризованных атомах углерода.

Предварительное рассмотрение особенностей состава реакционных смесей продуктов хлорирования позволяет придти к еще одному важному выводу. Высокая селективность их состава означает, что не все возможные продукты образуются в сопоставимых количествах. Так, из данных табл. 2 следует, что в реакционной смеси обнаружены три дихлор-, четыре трихлор-, пять тетрахлор- и два пентахлорзамещенных индана. Дополнительно присутствуют один моно-, три дихлор- и два трихлориндена. В реакционной смеси хлорирования тетралина обнаружены два дихлор-, три трихлор- и один тетрахлортетралин (дополнительно – один монохлордигидронафталин), что заметно меньше общего числа возможных изомерных хлорпроизводных и сравнимо с числом продуктов хлорирования только алициклических фрагментов структуры (последняя графа табл. 1). На этом основании можно предположить,

что в выбранных нами условиях хлорирования вклад электрофильного замещения $H \rightarrow Cl$ в ароматических фрагментах молекул заметно уступает вкладу свободнорадикальных процессов с участием алициклических фрагментов структуры. Важно, что эта особенность упрощает число альтернативных вариантов, подлежащих рассмотрению при идентификации продуктов хлорирования, хотя полностью исключать возможность хлорирования индана или тетралина в ароматические системы нельзя.

Масс-спектрометрические особенности продуктов хлорирования индана. Прежде всего, целесообразно упомянуть масс-спектрометрические различия хлорпроизводных ароматических углеводородов, содержащих хлор в ароматическом ядре, т.е. при $C(sp^2)$, и в неароматических фрагментах структуры при $C(sp^3)$. Наличие в молекуле p - π -сопряженного фрагмента структуры $Cl-C(sp^2)$ проявляется в больших интенсивностях сигналов молекулярных ионов по сравнению с несопряженным фрагментом $Cl-C(sp^3)$ вследствие делокализации заряда молекулярных ионов. Так, по данным базы [1], у монохлорпроизводных ароматических углеводородов C_8H_{10} средние значения относительных интенсивностей сигналов молекулярных ионов с m/z 140 при отсутствии сопряжения составляют $19 \pm 6\%$, а для изомерных сопряженных структур – $46 \pm 6\%$, т.е. статистически значимо различаются. Для монохлорпроизводных алкиларенов C_9H_{12} наблюдаются аналогичные различия: 20 ± 8 и $45 \pm 22\%$. Однако такой критерий не относится к абсолютным, поскольку для его использования необходимо располагать масс-спектрами хотя бы нескольких представителей рассматриваемых рядов, которых в нашем случае нет. Интенсивности сигналов молекулярных ионов монохлоринданов соответствуют диапазону 1–17%, а монохлоринденов – 2–23%, что более соответствует несопряженным хлорпроизводным.

Другая заслуживающая внимания особенность присуща только масс-спектрам тетралинов. В масс-спектрах незамещенного и метилзамещенных тетралинов проявляется характеристичный распад молекулярных ионов по типу ретрореакции Дильса–Альдера (схема 2) [1, 23].

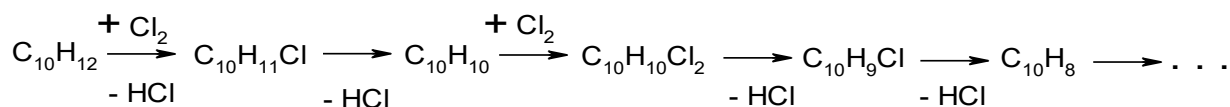


Схема 1. Образование продуктов последовательного хлорирования тетралина.

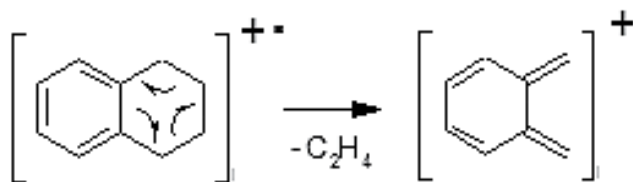


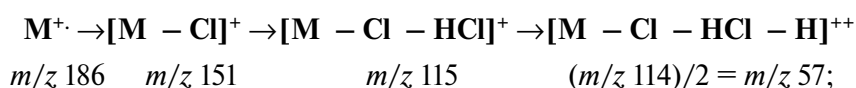
Схема 2. Фрагментация молекулярных ионов тетралинов по типу ретрореакции Дильса–Альдера.

В случае незамещенного тетралина образуются ионы с m/z 104, а в масс-спектрах его метилпроизводных в зависимости от положения заместителей их массовые числа либо остаются такими же (2-метил, 2,3-диметил, 2-этил), либо смещаются на +14 Да (1-метил, 5-метил, 6-метил, 2,6-диметил, 2,7-диметил) или

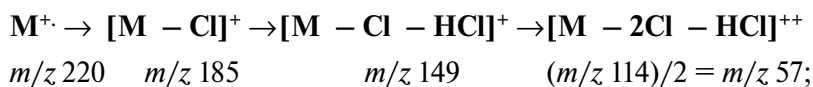
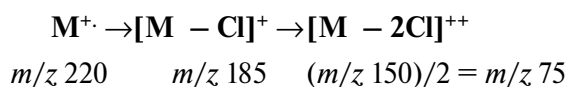
замещенных инданов столь специфические направления фрагментации отсутствуют, но можно полагать, что преимущественное направление хлорирования индана останется тем же, что и для тетралина, т.е. замещение атомов водорода в алициклической системе.

И, наконец, в масс-спектрах хлорпроизводных индана, индена (табл. 2) обращают на себя внимание интенсивные сигналы с необычными массовыми числами: m/z 57 для их монохлорпроизводных и дихлоринданов, m/z 74 для дихлоринденов, m/z 56 и 74 для трихлоринденов, m/z 57 и 74 для трихлоринданов и m/z 56 и 74 для тетрахлоринданов. Массовые числа этих ионов не соответствуют никаким структурным фрагментам молекул, и их можно соотнести только с сигналами двухзарядных ионов, образующихся в результате следующих процессов:

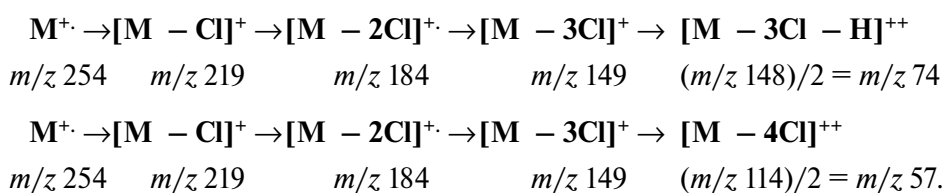
Дихлоринданов:



Трихлоринданов:



Тетрахлоринданов:



на +28 Да (1,4-диметил, 5,6-диметил, 5,7-диметил, 6,7-диметил, 6-этил) [1]. Логично заключить, что при наличии атомов хлора в α -положении алициклического или в арильном фрагментах вместо сигнала с m/z 104 должен наблюдаться сигнал с m/z 104 – 1 + 35 = 138 Да. В смеси продуктов свободнорадикального хлорирования тетралина в масс-спектрах компонентов с RI 1364 ($C_{10}H_{11}Cl$), 1552 ($C_{10}H_{10}Cl_2$) и 1680 ($C_{10}H_9Cl_3$) такие сигналы отсутствуют, и только в масс-спектре компонента $C_{10}H_{10}Cl_2$ с RI 1515 (содержание в смеси 1.1%) наблюдаются слабые сигналы с отношением интенсивностей 3 : 1 с m/z 138 (3%) и 140. Это означает, что только этот компонент содержит атом хлора в α -положении к ароматическому ядру или, менее вероятно, в ароматической системе. В случае

Аналогичные сигналы двухзарядных ионов обнаруживаются и в масс-спектрах хлортетралинов (табл. 3), а также других полихлорированных ароматических углеводородов [1].

Уточнение результатов идентификации с использованием индексов удерживания. Уточнение представленных в табл. 2 и 3 результатов возможно только с использованием газохроматографических индексов удерживания. Исходные посылки рассматриваемой задачи небезынтересно сравнить с начальными условиями идентификации продуктов свободнорадикального хлорирования циклогексана [12], поскольку там число известных к моменту начала работы значений RI, особенно для хлорпроизводных с $n_{Cl} \geq 2$ ($C_6H_{10}Cl_2$, $C_6H_9Cl_3$ и $C_6H_8Cl_4$), также было ограниченным. Однако для них, во-первых, удалось найти

литературные данные о временах удерживания всех изомерных дихлорциклогексанов, которые были пересчитаны в значения RI. Во-вторых, несколько хлорпроизводных были специально синтезировано с целью определения их RI, в том числе все 1,1,з-трихлорциклогексаны ($z = 2-4$). Это позволило создать достаточно представительную аддитивную схему для оценки индексов удерживания всех возможных изомерных хлорциклогексанов. В случае же хлорпроизводных индана и индена подобной “начальной” информации нет, а синтез отдельных конгенеров этих групп весьма трудоемок. В публикациях [21, 22] приведены абсолютные времена удерживания некоторых изомеров (преимущественно Ag-замещенных), которые можно использовать только на “уровне” порядка хроматографического элюирования. Отсутствие справочных значений RI допускает единственный вариант интерпретации данных: отнесение к группам изомеров с разным числом атомов хлора в молекулах по числу и соотношениям интенсивностей изотопных пиков в группах сигналов молекулярных ионов.

Тем не менее уточнение результатов идентификации за счет хроматографических данных возможно даже в столь сложной ситуации. Среди структурных аналогов хлорпроизводных можно найти охарактеризованные гораздо подробнее. Прежде всего, это метилзамещенные инданы и индены, соответствующие гипотетическому взаимно однозначному преобразованию $Cl \leftrightarrow CH_3$. Число таких аналогов в каждой из указанных групп для сравнения также указано в табл. 1, причем оно существенно превышает число представленных в базе [1] хлорпроизводных. Так, для метилиндов $(CH_3)_1-(CH_3)_4$ известно 20 значений RI, а метилиненов – четыре.

Использование индексов удерживания метильных аналогов возможно в виде нелинейных (формула (1)) или (если не требуется высокая точность оценок) более простых двухпараметровых корреляционных соотношений (формула (2)) [24, 25]:

$$\lg RI(1) = a \lg RI(2) + bA + c, \quad (1)$$

$$RI(1) \approx aRI(2) + b. \quad (2)$$

Однако даже для вычисления коэффициентов уравнений вида (2) методом наименьших квадратов необходимо располагать как минимум тремя парами значений RI хлорпроизводных и их метильных аналогов. В нашем случае даже такого количества данных нет, что делает этот подход неприменимым. Тем не менее можно оценить инкременты замены групп CH_3 атомами хлора не в рядах инданов и инденов, а для

иных объектов, для которых известно достаточное количество справочных данных. Результаты таких оценок (ΔRI) приведены в табл. 4.

В результате усреднения значений разностей индексов удерживания хлор- и метилсодержащих аналогов получаем, что среднее значение инкремента замены $CH_3 \rightarrow Cl$ при первичных или вторичных sp^3 -гибридизованных атомах углерода составляет 136 ± 8 ед. инд. При третичных атомах углерода значение ΔRI несколько меньше, но данных для его надежной оценки недостаточно. Для аналогичной трансформации структуры при sp^2 -гибридизованных атомах углерода (при двойных связях $C=C$ или в ароматических системах) это значение статистически значимо отличается от предыдущего и составляет 76 ± 8 ед. инд. Интересно отметить, что абсолютные величины этих оценок близки к полученным еще в 2004 г. оценкам ΔRI для преобразований структуры $Cl \rightarrow CH_3$, а именно -128 ± 13 (sp^3) и -61 ± 15 (sp^2) [26].

Вычисления с использованием найденных инкрементов отличаются простотой. С их использованием индексы удерживания всех охарактеризованных метилиндов и метилиненов могут быть пересчитаны в значения RI изоструктурных хлорпроизводных (табл. 5) со стандартными отклонениями 8–16 ед. инд. Учитывая отмеченное выше преимущественное хлорирование алициклических фрагментов структуры, соответствующие изомеры должны быть рассмотрены в первую очередь. Полученный набор оценок RI позволяет уточнить приведенные в табл. 2 первичные результаты идентификации (табл. 5).

Необходимо отметить, что рассматриваемому подходу присущ элемент неопределенности, который невозможно устранить без расширения числа охарактеризованных структурных аналогов. Дело в том, что все указанные в табл. 4 оценки получены для “свободных” групп CH_3 и атомов хлора (в стерически незатрудненных положениях), в то время как некоторые продукты хлорирования индана и индена (а также тетралина) содержат атомы хлора в алициклических системах в α -положениях к арильным фрагментам структуры (схема 3):

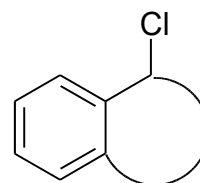


Схема 3. Схематическое изображение структурного фрагмента, хуже всего представленного среди соединений, охарактеризованных газохроматографическими индексами удерживания.

Таблица 4. Индексы удерживания некоторых хлорпроизводных и их метильных аналогов для оценки инкремента RI структурного преобразования $\text{Cl} \leftrightarrow \text{CH}_3$

Соединение X-Cl	Мол. масса	RI* [1]	Аналог X-CH ₃	RI* [1]	ΔRI
Атом хлора при первичном или вторичном атоме углерода C(sp ³)					
1-Хлорбутан	92	640	<i>n</i> -Пентан	500	140
Хлорциклопентан	104	762	Метилциклопентан	628	134
3-Хлорциклогексен	116	872	3-Метилциклогексен	743	129
Хлорциклогексан	118	874	Метилциклогексан	721	153
(1-Хлорэтил)бензол	140	1048	Кумол	919	129
(2-Хлорэтил)бензол	140	1079	<i>n</i> -Пропилбензол	945	134
1-Метил-4-хлорметилбензол	154	1094	1-Метил-4-этилбензол	953	141
(2-Хлорпропил)бензол	154	1133	Изобутилбензол	995	138
(3-Хлорпропил)бензол	154	1175	<i>n</i> -Бутилбензол	1047	128
Среднее значение 136 ± 8					
Атом хлора при третичном C(sp ³) (в т.ч. в α-положении к фенильному фрагменту)					
1,1-Дихлорциклогексан	152	978	1,1-Диметилциклогексан	783	195 = 2 × 98
(1-Метил-1-хлорэтил)бензол	154	1070	<i>трет</i> -Бутилбензол	986	84
Приблизительная оценка среднего значения 93 ± 8					
Атом хлора при C(sp ²)					
Винилхлорид	62	369	Пропилен	290	79
1-Хлорпропен	76	490	2-Бутен	409	81
2-Хлорпропен	76	470	Изобутилен	388	82
Хлоропрен	88	572	Изопрен	504	68
Хлорбензол	112	839	Толуол	757	82
4-Хлортолуол	126	948	<i>n</i> -Ксилол	860	88
1-Изопропил-4-хлорбензол	154	1080	<i>n</i> -Цимол	1014	66
1-Хлорнафталин	162	1353	1-Метилнафталин	1290	63
2-Хлорнафталин	162	1351	2-Метилнафталин	1273	78
4-Хлор-1,1'-бифенил	188	1549	4-Метил-1,1'-бифенил	1476	73
Среднее значение 76 ± 8					

*Значения RI указаны без стандартных отклонений.

Таблица 5. Результаты оценки индексов удерживания хлорзамещенных в алициклические фрагменты структуры инданов и инденов различными способами

Метилзамещенные углеводороды	RI [1]	Оценки RI хлорпроизводных		Общее среднее значение
		по схеме CH ₃ → Cl	альтернативные (способ*)	
Инданы				
1-Метил	1078 ± 1	1214 ± 8	1214 ± 12 (I) 1219 ± 17 (<i>T</i> _{кип}) 1217 ± 10 (II) 1232 ± 9 (II) 1221 ± 12 (II)	1220 ± 7
2-Метил	1086 ± 4	1222 ± 9	1229 ± 16 (I) 1211 ± 11 (II) 1219 ± 9 (II)	1220 ± 7
1,1-Диметил	1090 ± 5	[1276 ± 12]**	1348 ± 11 (I) 1359 ± 10 (II) 1386 ± 16 (II) 1383 ± 12 (II)	1369 ± 18
1,2-Диметил***	1130	1402 ± 11	[1325 ± 19] (I) 1439 ± 9 (II) 1422 ± 10 (II) 1442 ± 15 (II) 1413 ± 11 (II) [1380 ± 14] (II)	1424 ± 17
1,3-Диметил***	1135 ± 8	1407 ± 14	1405 ± 18 (I) 1417 ± 21 (II) 1394 ± 16 (II)	1406 ± 9
2,2-Диметил	-		1129 ± 3 → 1315 ± 15 1283 ± 11 (I) 1325 ± 5 (II)	1308 ± 22
1,1,2-Триметил	-		1178 ± 7 → 1500 ± 15 1473 ± 17 (I) 1549 ± 9 (II) [1579 ± 23] (II)	1507 ± 39
1,1,3-Триметил	1217 ± 8	1492 ± 16	1510 ± 18 (I) [1566 ± 28] (II) 1548 ± 18 (II)	1529 ± 27
1,2,2-Триметил	-		1211 ± 4 → [1427 ± 17] 1488 ± 26 (II) 1495 ± 15 (II) 1534 ± 15 (II)	1506 ± 25
1,2,3-Триметил***	-		1203 ± 11 → 1611 ± 18 1632 ± 36 (II) 1582 ± 11 (II)	1608 ± 25
1Н-Индены				
1-Метил	1104 ± 13****	1240 ± 15	1233 ± 7 (I) [1247 ± 12] (II) 1228 ± 11 (II) 1194 ± 13 (II)	1224 ± 20
2-Метил	1140 ± 13****	1216 ± 15	1209 ± 12 (I) 1236 ± 12 (II) 1223 ± 11 (II)	1221 ± 12

Таблица 5. (Продолжение)

Метилзамещенные углеводороды	RI [1]	Оценки RI хлорпроизводных		Общее среднее значение
		по схеме $\text{CH}_3 \rightarrow \text{Cl}$	альтернативные (способ*)	
3-Метил	1128 ± 12****	1204 ± 14	[1254 ± 12] (I) 1223 ± 11 (II) 1241 ± 11 (II)	1223 ± 18
1,1-Диметил	1161	1347 ± 11	[1264 ± 14] (II) 1350 ± 11 (II) 1325 ± 13 (II) [1381 ± 26] (II)	1341 ± 14
1,2-Диметил	-		1109 ± 7 → [1321 ± 13] 1192 ± 14 → 1404 ± 18 1425 ± 15 (I)	1314 ± 15
1,3-Диметил	-		1180 ± 6 → 1392 ± 13 1174 ± 14 → 1386 ± 18 [1465 ± 14] (I)	1389 ± 4
2,3-Диметил	-		1137 ± 5 → 1289 ± 12 1144 ± 10 → 1296 ± 15 [1381 ± 15] (I)	1292 ± 5

*Символ (I) соответствует “сборке” структуры по схеме (4), символ (II) – по соотношению (3); **в квадратные скобки заключены значения, существенно отличающиеся от остальных и не усредненные вместе с ними; ***использованы значения базы [1] без отнесения к цис-транс-изомерам; ****приведенные в базе [1] значения RI ненадежны и вместо них использованы данные из коллекции автора (И.З.).

Поскольку этот структурный фактор влияет на значения инкрементов ΔRI , невозможность его учета увеличивает неопределенность оценок индексов удерживания.

Кроме того, в рассмотренном подходе сохраняются ограничения, обусловленные недостатком справочной информации для метилзамещенных инданов и инденов. Так, не удастся предсказать значения RI четырех из 10 хлорпроизводных инданов $\text{Cl}_1\text{--Cl}_3$ и трех из семи хлоринденов $\text{Cl}_1\text{--Cl}_2$. Это означает, что ограничиваться оценками RI только на основании инкрементов $\Delta\text{RI}(\text{CH}_3 \rightarrow \text{Cl})$ нежелательно и необходимо привлечение других способов. В отдельных случаях можно предварительно оценить индексы удерживания метилинданов и метилинденов по аддитивной схеме, а потом использовать тот же алгоритм, однако это усложняет вычисления и увеличивает погрешности результатов. Небезынтересно заметить, что оценка RI 1-хлориндана на основании его нормальной температуры кипения (229°C) с использованием модифицированного алгоритма [24] дает значение 1219 ± 17 , что хорошо согласуется с величиной 1214 ± 8 , полученной по обсуждаемой выше аддитивной схеме. К сожалению, для остальных конгенов такой подход неприменим из-за отсутствия данных о $T_{\text{кип}}$. По этой причине альтернативные способы оценок RI хлоринданов и хлоринденов могут базироваться только на иных аддитивных схемах.

Альтернативные способы оценки индексов удерживания продуктов хлорирования индана. Одной из дополнительных аддитивных схем является “сборка” бициклических индановых структур из арильного ядра и ациклических алкановых фрагментов. Для инденов в качестве ациклических фрагментов можно использовать данные для соответствующих алкенов. Естественно, что вычисление RI целевых структур простым суммированием значений RI таких “прекурсоров” невозможно и, как и в предыдущем случае, необходимы соответствующие инкременты, ΔRI (табл. 5):

При всей необычности подобных структурных трансформаций их точность не уступает возможностям других алгоритмов. Если в формируемой молекуле индана нет заместителей в α -положениях к бензольному кольцу, то среднее значение инкремента ΔRI составляет 79 ± 14 ед. инд., при наличии одного разветвления оно уменьшается до 26 ± 8 , а двух – до -8 ± 16 ед. инд. Для производных 1Н-индана влияние разветвлений меньше вследствие большей жесткости алициклической системы: 85 ± 10 (нет заместителей)

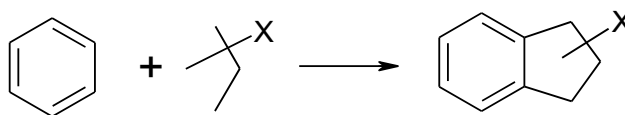


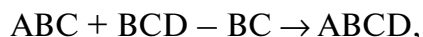
Схема 4. “Сборка” индановых структур из ароматического и ациклических фрагментов.

и 54 ед. инд. в случае 1,1-диметил-1Н-индена (к сожалению, только одно значение). Полученные для преобразования (2) значения ΔRI приведены в табл. 6, а результаты оценки RI хлорпроизводных индана и 1Н-индена с их использованием сопоставлены с предыдущими в табл. 5.

Несмотря на невысокую точность аддитивных схем, полученные разными способами значения RI большинства хлорпроизводных неплохо согласуются друг с другом, за исключением 1,1- и 1,2-дихлоринданов и 3-моно- и 1,1-дихлор-1Н-инденов. Поэтому необходима еще одна дополнительная независимая проверка полученных оценок RI .

Такой способ существует — это оценка индексов удерживания в результате

гипотетической взаимно однозначной “сборки” молекул целевых аналитов из более простых (и, следовательно, лучше охарактеризованных) предшественников, после чего арифметические операции со значениями RI следуют этой схеме [15, 27, 28]. Если представить схему алгоритма в общем виде, то для оценки RI соединения ABCD необходимо совершить следующие операции:



после чего получаем:

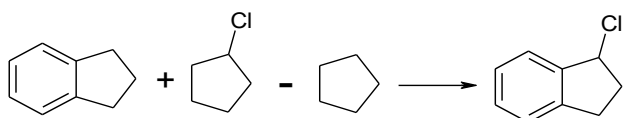
$$RI(ABCD) = RI(ABC) + RI(BCD) - RI(BC). \quad (3)$$

Таблица 6. Оценка инкрементов DRI структурных преобразований, соответствующих схеме 4

Целевая структура	Мол. масса	RI*	Арильный фрагмент	RI	Ациклический фрагмент	RI*	ΔRI
Инданы							
Незамещенный	118	1023	Бензол	654	Пропан	300	69
1-Метил-	132	1078	Бензол	654	<i>n</i> -Бутан	400	24**
2-Метил-	132	1086	Бензол	654	Изобутан	363	70
4-Метил-	132	1136	Толуол	757	Пропан	300	79
5-Метил-	132	1124	Толуол	757	Пропан	300	67
1,1-Диметил-	146	1090	Бензол	654	2-Метилпентан	473	37**
1,2-Диметил-	146	1130	Бензол	654	2-Метилпентан	473	3***
1,3-Диметил-	146	1135	Бензол	654	<i>n</i> -Пентан	500	−19***
1,6-Диметил-	146	1174	Толуол	757	<i>n</i> -Бутан	400	17**
3,5-Диметил-	146	1235	<i>m</i> -Ксилол	757	Пропан	300	75
3,7-Диметил-	146	1251	<i>n</i> -Ксилол	860	Пропан	300	91
5-Амино-	133	1358	Анилин	954	Пропан	300	104
Средние значения ΔRI:							
нет разветвлений sp ³ -углеродного скелета:						79 ± 14	
одно разветвление:						26 ± 8	
два разветвления:						−8 ± 16	
1Н-Индены							
Незамещенный	116	1035	Бензол	654	Пропен	290	91
1-Метил-	130	1124	Бензол	654	1-Бутен	384	96
3-Метил-	130	1155	Бензол	654	2-Бутен	409	92
1,1-Диметил-	144	1161	Бензол	654	3-Метил-1-бутен	453	54
2-Этил-	144	1218	Бензол	654	2-Метил-1-бутен	494	70
Средние значения ΔRI:							
нет разветвлений sp ³ -углеродного скелета:						85 ± 10	
одно разветвление:						54	

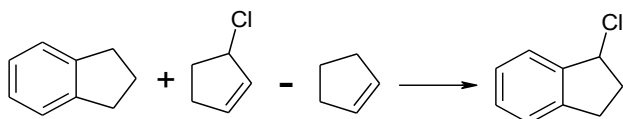
*Все значения RI указаны без стандартных отклонений; **при “сборке” молекулы появляется одно дополнительное разветвление углеродного скелета; *** появляются два дополнительных разветвления углеродного скелета.

Формально такой способ оценки не требует предварительного вычисления каких-либо инкрементов, но фактически эта операция “скрыта” в уравнении (3) в виде разности $RI(B-CD) - RI(BC)$. Более наглядно суть этого способа можно проиллюстрировать на конкретном примере оценки RI 1-хлориндана с использованием значений RI незамещенного индана, хлорциклопентана и незамещенного циклопентана:



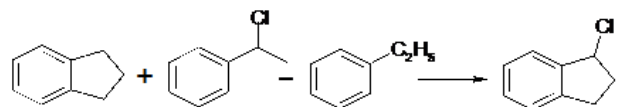
$$(1023 \pm 8) + (762 \pm 4) - (568 \pm 5) = (1217 \pm 10).$$

Алгоритм допускает крайне широкое варьирование структур выбираемых предшественников. Например, оценку RI 1-хлориндана можно получить иначе:



$$(1023 \pm 8) + (761) - (552 \pm 4) = (1232 \pm 9)$$

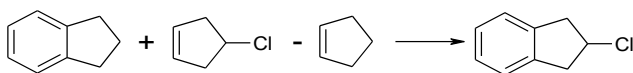
и даже:



Другим способом (кроме повтора) “восстановить” потерянную $C-C$ связь во второй структуре не получилось:

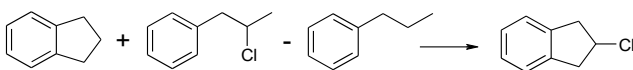
$$(1023 \pm 8) + (1048 \pm 6) - (850 \pm 6) = (1221 \pm 12).$$

В последнем из вариантов уже отражен такой важный стерический фактор, как наличие атома хлора в заместителе в α -положении к ароматической системе. Для изомерного 2-хлориндана можно выбрать следующие схемы “сборки”:



$$(1023 \pm 8) + (748) - (552 \pm 4) = (1219 \pm 9)$$

и



$$(1023 \pm 8) + (1133 \pm 6) - (945 \pm 5) = (1211 \pm 11).$$

Как можно видеть, полученные оценки приемлемо согласуются между собой и с предыдущими результатами. Число вариантов может быть существенно расширено, однако с целью предотвращения чрезмерного увеличения объема текста они подробно не детализированы и для

всех таких оценок (табл. 5) в качестве способа их получения указано (II). Небезынтересно упомянуть хорошее совпадение полученных результатов с очень “грубой” оценкой RI 1-хлориндана по аддитивной схеме [10] в базе NIST [1] (1213, доверительный интервал 72 при доверительной вероятности 50%).

В результате для каждого из хлоринданов Cl_1-Cl_3 и хлоринденов Cl_1-Cl_2 получаем несколько оценок индексов удерживания, каждая из которых не имеет предпочтений, по сравнению с остальными, и поэтому они подлежат усреднению. Некоторые значения RI в табл. 5, заметно отличающиеся от остальных (выделены квадратными скобками), не учитывали при окончательном усреднении результатов. Весьма показательны значения стандартных отклонений (s_{RI}): если для монохлоринданов они равны 7 ед. инд., то для дихлор- увеличиваются до 9–22, а для трихлор- уже до 25–39 ед. инд. (для хлоринденов 14–20 ед. инд.; оценки s_{RI} 4 и 5 ненадежны). Дальнейшее увеличение числа атомов хлора в молекуле приводит к еще большим стандартным отклонениям, и поэтому мы ограничились рассмотрением только хлоринданов, содержащих не более трех атомов хлора (для хлоринденов – двух).

Главной причиной больших значений s_{RI} представляется именно отсутствие экспериментальных справочных значений RI для простейших хлорпроизводных, что заставляет использовать для них косвенные оценки. Более того, указанный выше структурный фрагмент молекул органических соединений (атом хлора в алициклической системе в α -положении к ароматической системе) вообще не представлен среди соединений, охарактеризованных в настоящее время газохроматографическими индексами удерживания. Недостаток справочных данных заставляет характеризовать *цис*- и *транс*-изомеры некоторых конгенов одними и теми же значениями RI , что также является весьма грубым приближением. Однако даже значительные стандартные отклонения полученных значений RI во многих случаях не препятствуют оценке последовательностей элюирования рассматриваемых соединений. Сравнение индексов удерживания компонентов реакционной смеси хлорирования индана с приведенными в табл. 5 оценками RI хлоринданов Cl_1-Cl_3 и хлоринденов Cl_1-Cl_2 позволило идентифицировать восемь из них (результаты представлены в табл. 7). При этом даже неоднозначные результаты представляют интерес. Например, структуру компонента с RI 1216 не удастся установить однозначно, так как значения RI трех изомерных инденов (1-, 2- и 3-) близки между собой. В то же время структура *Ar*-хлорпроизводного может быть однозначно исключена.

Таблица 7. Результаты уточнения хромато-масс-спектрометрической идентификации компонентов реакционной смеси продуктов свободнорадикального хлорирования индана с использованием их газохроматографических индексов удерживания

RI	$S_{\text{отн}} \geq 0.4\%$	$(m/z)^{100}$	Мол. масса, число атомов хлора	Молекулярная формула и результат идентификации	Комментарии, RI _{вычисл}
1216	0.2	115	150 Cl ₁	C ₉ H ₇ Cl, 1-, 2- и/или 3-хлор-1H-инден	1221–1224
1296	< 0.1	149	184 Cl ₂	C ₉ H ₆ Cl ₂ , 2,3-дихлор-1H-инден	1296
1362	1.4	115	186 Cl ₂	C ₉ H ₈ Cl ₂ , 1,1-дихлориндан	1369
1378	5.2	149	184 Cl ₂	C ₉ H ₆ Cl ₂ , 1,3-дихлоринден	1389
1388	8.1	115	186 Cl ₂	C ₉ H ₈ Cl ₂ , 1,3-дихлориндан	1406
1403	1.6	149	184 Cl ₂	C ₉ H ₆ Cl ₂ , <i>дихлоринден</i>	—
1405	1.3	131	218 Cl ₃	C ₉ H ₅ Cl ₃ , 1,1,2-трихлоринден	Изомер с минимальным значением RI
1421	1.3	183	218 Cl ₃	C ₉ H ₅ Cl ₃ , <i>трихлоринден</i>	—
1438	3.4	115	186 Cl ₂	C ₉ H ₈ Cl ₂ , 1,2-дихлориндан	1424; изомер с максимальным значением RI
1460	20.5	185	220 Cl ₃	C ₉ H ₇ Cl ₃ , <i>трихлориндан</i>	—
1484	0.4	185	220 Cl ₃	C ₉ H ₇ Cl ₃ , <i>трихлориндан</i>	—
1508	8.6	185	220 Cl ₃	C ₉ H ₇ Cl ₃ , 1,2,2-трихлориндан	1506
1538	14.0	219	254 Cl ₄	C ₉ H ₆ Cl ₄ , <i>тетрахлориндан</i> **	—
1562	1.9	185	220 Cl ₃	C ₉ H ₇ Cl ₃ , 1,2,3-трихлориндан	1608; изомер с максимальным значением RI
1596	0.6	219	254 Cl ₄	C ₉ H ₆ Cl ₄ , <i>тетрахлориндан</i>	—
1612	27.6	219	254 Cl ₄	C ₉ H ₆ Cl ₄ , <i>тетрахлориндан</i>	—
1631	0.3	219	254 Cl ₄	C ₉ H ₆ Cl ₄ , <i>тетрахлориндан</i>	—
1651	0.6	187	222 Cl ₃	C ₉ H ₉ Cl ₃	Хлорпроизводное углеводорода C ₉ H ₁₂
1712	0.7	219	254 Cl ₄	C ₉ H ₆ Cl ₄ , <i>тетрахлориндан</i>	—
1746	0.5	253	288 Cl ₅	C ₉ H ₅ Cl ₅ , <i>пентахлориндан</i>	—
1754	0.4	221	288 Cl ₅	C ₉ H ₅ Cl ₅ , <i>пентахлориндан</i>	—

Сумма: 98.5%

*Курсивом здесь и далее набраны названия неоднозначно идентифицированных соединений; **идентификацию тетрахлорпроизводных не рассматривали из-за ожидаемо высокой неоднозначности результатов.

* * *

Таким образом, на примере продуктов свободнорадикального хлорирования индана (и, для сравнения, тетралина) показано, что в результате их “стандартной” хромато-масс-спектрометрической идентификация могут быть установлены только молекулярные формулы продуктов. Для индивидуальной идентификации необходимо привлечение газохроматографических индексов удерживания в форме различных локальных аддитивных схем, т.е. таких, которые формируют для решения именно рассматриваемой конкретной задачи. Если в структурах соединений, ранее охарактеризованных индексами удерживания, представлены все необходимые элементы, то даже простейшие аддитивные схемы достаточно корректны. Если же такое условие не выполняется (как в случае хлорпроизводных индана), то это не означает невозможность интерпретации индексов удерживания, однако значительно снижает точность их оценок и увеличивает объем предварительных вычислений. Подобным ключевым фрагментом структуры хлорпроизводных индана является атом хлора в алициклической системе в α -положении к бензольному ядру.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Настоящая работа финансировалась за счет бюджета Института химии Санкт-Петербургского государственного университета. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство этим конкретным исследованием получено не было.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. The NIST Mass Spectral Library (NIST2023/2020/2017/EPA/NIH EI MS Library, 2023 Release). Software/Data Version; NIST Standard Reference Database, Number 69, May 2023. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899: <http://webbook.nist.gov> (дата обращения: октябрь 2023 г.).
2. Derivatization of analytes in chromatography: General aspects / Encyclopedia of Chromatography / Ed. Cazes J. 3rd Ed. New York: Taylor & Francis, 2010. V. 1. P. 562.
3. Amines, amino acids, amides and imides: derivatization for GC analysis / Encyclopedia of Chromatography / Ed. Cazes J. 3rd Ed. New York: Taylor & Francis, 2010. V. 1. P. 50.
4. *Зенкевич И.Г.* Систематизация газохроматографических параметров триметилсилильных производных аминокислот // Журн. аналит. химии. 2024. Т. 79. № 7. (*Zenkevich I.G.* // J. Anal. Chem. 2024. V. 79. № 7.)
5. *Pompe M., Novic M.* Prediction of gas-chromatographic retention indices using topological descriptors // J. Chem. Inf. Comput. Sci. 1999. V. 39. № 1. P. 59.
<https://doi.org/10.1021/ci980036z>
6. *Heberger K.* Quantitative structure – (chromatographic) retention relationships (QSRR) // J. Chromatogr. A. 2007. V. 1158. P. 273.
<https://doi.org/10.1016/chroma.2007.03.108>
7. *Matyshin D.D., Sholokhova A. Yu., Buryak A.K.* Deep learning based prediction of gas chromatographic retention indices for a wide variety of polar and mid-polar liquid stationary phases // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. P. 13.
<https://doi.org/10.3390/ijms22179194>
8. *Idroes R., Noviandy T.R., Maulana A., Syhendra R., Sasmita N.R., Muslem M., Idroes G.M., Kemala P., Irvanizam I.* Application of genetic algorithm – multiple linear regression and artificial neural network determination for prediction of Kovats retention index // Int. Rev. Model. Simulat. 2021. V. 14. № 2. P. 137.
<https://doi.org/10.15866/iremos.v14i2.20460>
9. *Qu C., Schneider B.I., Kearsley A.J., Keyrouz W., Allison T.C.* Predicting Kovats retention indices using graph neural networks // J. Chromatogr. A. 2021. V. 1646. Article 462100.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462100>
10. *Stein S.E., Babushok V.I., Brown R.L., Linstrom P.J.* Estimation of Kovats retention indices using group contribution // J. Chem. Inf. Model. 2007. V. 47. P. 975.
<https://doi.org/10.1021/ci600548y>
11. *Зенкевич И.Г., Елисеенков Е.В., Касаточкин А.Н.* Идентификация продуктов органических реакций при отсутствии аддитивности хроматографических индексов удерживания. Хлорпроизводные метил-трет-бутилкетона // Журн. структ. химии. 2013. Т. 54. № 3. С. 453. doi: 10.1134/S0022476613030050 (*Zenkevich I.G., Eliseenkov E.V., Kasatochkin A.N.* Identification of organic reaction products in the absence of additivity of chromatographic retention indices. Chloro derivatives of methyl-tert-butyl ketone // J. Struct. Chem. 2013. V. 54. № 3. P. 505.)
12. *Zenkevich I.G., Eliseenkov E.V., Kasatochkin A.N.* Chromatographic identification of cyclohexane chlorination products by use of an additional scheme for the prediction of retention indices // Chromatographia. 2009. V. 70. № 5/6. P. 839.
13. *Зенкевич И.Г.* Интерпретация газохроматографических индексов удерживания для установления структур изомерных продуктов радикального хлорирования алкилароматических

- углеводородов // Журн. орг. химии. 2001. Т. 37. № 2. С. 283. (Zenkevich I.G. Interpretation of retention indices in gas chromatography for establishing the structures of isomeric products of alkylarenes radical chlorination // Russ. J. Org. Chem. 2001. V. 37. № 2. P. 270.)
14. Zenkevich I.G., Eliseenkov E.V., Kasatochkin A.N., Zhakovskaya Z.A., Khoroshko L.O. Gas chromatographic identification of chlorination products of aliphatic ketones // J. Chromatogr. A. 2011. V. 1218. P. 3291.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.12.056>
 15. Зенкевич И.Г., Елисеенков Е.В., Касаточкин А.Н., Уколов А.И. Хромато-масс-спектрометрическая идентификация продуктов регионеселективных органических реакций. Хлорпроизводные диалкиловых эфиров // Масс-спектрометрия. 2011. Т. 8. № 2. С. 119. (Zenkevich I.G., Eliseenkov E.V., Kasatochkin A.N., Ukolov A.I. Identification of the products of non-regioselective organic reactions by chromatography – mass spectrometry. Chloro derivatives of dialkyl ethers // J. Anal. Chem. 2011. V. 66. № 14. P. 1445.
<https://doi.org/10.1134/S1061934811140218>)
 16. Cady G.H., Naughton J.M., Dexter T.H. Chlorine (I) compounds / Inorganic Syntheses / Ed. Moeller T. New York: McGraw-Hill, 1957. V. 5. P. 156.
<https://doi.org/10.1002/9780470132364>
 17. Raner K.D., Luszyk J., Ingold K.U. Kinetic analysis of alkane polychlorination with molecular chlorine. Chlorine atom/monochloride geminate pairs and the effect of reactive cage walls on the competition between monochloride rotation and chlorine atom escape // J. Am. Chem. Soc. 1988. V. 110. № 11. P. 3519.
<https://doi.org/10.1021/ja00219a028>
 18. Russell G.A., Ito A., Hendry D.G. Solvent effects in the reaction of free radicals and atoms. VIII. The photochlorination of aralkyl hydrocarbons // J. Am. Chem. Soc. 1963. V. 85. P. 2976.
 19. Fujita T. The dipole moments and molecular structure of ac-trans-dihalotetralins // J. Am. Chem. Soc. 1957. V. 79. № 10. P. 2471.
<https://doi.org/10.1021/ja01567a033>
 20. Москвин Л.Н., Зенкевич И.Г., Карцова Л.А. Понятие “селективность” и его содержание в методах разделения веществ // Журн. аналит. химии. 2004. Т. 59. № 7. С. 697. doi: 10.1023/B:-JANC.0000035270.18330.87 (Moskvin L.A., Zenkevich I.G., Kartrova L.A. Concept of selectivity and its meaning in analytical separation techniques // J. Anal. Chem. 2004. V. 59. № 7. P. 617.)
 21. Novrocik J., Komarek K., Poskocil J. Gas-liquid chromatography of some o-xylene, indane and tetralin derivatives // J. Chromatogr. 1976. V. 124. P. 73.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)87841-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)87841-3)
 22. Novrocik J., Poskocil J., Cepciansky I. Chlorination of indane, o-xylene and tetraline // Collect. Czech. Chem. Commun. 1978. V. 43. № 6. P. 1488.
<https://doi.org/10.1135/cccc19781488>
 23. Лебедев А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии. М.: Техносфера, 2015. 704 с.
 24. Zenkevich I.G. Reciprocally unambiguous conformity between GC retention indices and boiling points within two- and multidimensional taxonomic groups of organic compounds // J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun. 1998. V. 21. № 10. P. 565.
 25. Зенкевич И.Г. Особенности линейной корреляции газохроматографических индексов удерживания соединений различных таксономических групп // Журн. аналит. химии. 2023. Т. 78. № 6. С. 528. <https://doi.org/10.1134/S1061934823040160> (Zenkevich I.G. Linear correlation of the gas chromatographic retention indices of compounds from various taxonomic groups // J. Anal. Chem. 2023. V. 78. № 6. P. 766.)
 26. Zenkevich I.G. New approach in joint interpretation of mass spectrometric and gas chromatographic data // Chemometr. Intel. Lab. Systems. 2004. V. 72. P. 233.
<https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2003.12.016>
 27. Zenkevich I.G., Moeder M., Koeller G., Schrader S. Using new structurally related additive schemes in the precalculation of GC retention indices of polychlorinated hydroxybiphenyls on HP-5 stationary phase // J. Chromatogr. A. 2004. V. 1025. P. 227.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.10.16>
 28. Зенкевич И.Г., Уколов А.И. Совместная интерпретация хроматографической и масс-спектрометрической информации при идентификации продуктов конденсации карбонильных соединений // Масс-спектрометрия. 2011. Т. 8. № 4. С. 264.
<https://doi.org/10.1134/S1061934812130114> (Zenkevich I.G., Ukolov A.I. Combined interpretation of chromatographic and mass spectral information in identifying condensation products of carbonyl compounds // J. Anal. Chem. 2012. V. 67. № 13. P. 39.)

COMPLEXITIES OF CHROMATO-MASS SPECTROMETRIC IDENTIFICATION OF PRODUCTS OF FREE RADICAL CHLORINATION OF INDANE

I. G. Zenkevich^{a*}, E. V. Eliseenkov^a, A. I. Ukolov^{a,b}

^a St. Petersburg State University, Institute of Chemistry, 198504 St. Petersburg, Russia

^b Research Institute of Hygiene, Occupational Diseases, and Human Ecology Federal Medical and Biological Agency of Russia 188663 Kuzmolovsky settlement, Russia

*E-mail: izenkevich@yandex.ru

Abstract. Using the example of the products of free radical chlorination of indane (with data for tetralin mentioned for comparison), it is shown that chromato-mass spectrometric analysis can only establish their molecular formulas, and based on this, the reaction mechanism is detailed. Refining the structure of the components requires interpreting their gas chromatographic retention indices in the form of localized additive schemes created to solve the specific task at hand. If such schemes are formed based on data from objects containing all the structural elements of the characterized compounds, they are fairly reliable. However, if this condition is not met (as in the case under consideration), the possibility of interpreting the retention indices is fundamentally preserved, but the accuracy of the estimates is significantly reduced, and the amount of preliminary calculations increases substantially. A key structural fragment of chlorinated indane derivatives, practically absent among previously characterized compounds, is the chlorine atom in the alicyclic fragment of the structure at the α -position relative to the aromatic system. Secondary chlorinated derivatives are formed as a result of dehydrochlorination of the primary reaction products, followed by chlorine addition to C=C double bonds.

Keywords: indane, free radical chlorination, chromato-mass spectrometric identification of products, retention indices, challenges of additive scheme application.

УДК 543

СОВМЕСТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕВЯТИ УРЕМИЧЕСКИХ ТОКСИНОВ И ХОЛИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С ТАНДЕМНЫМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

© 2024 г. Т. И. Алюшина^а, Е. И. Савельева^{а, *}, В. А. Добронравов^б

^а Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека
Федерального медико-биологического агентства России
г.п. Кузьмоловский, ст. Капитолово, Всеволожский район,
Ленинградская область, 188663 Россия

^б Научно-исследовательский институт нефрологии при Первом Санкт-Петербургском государственном
медицинском университете им. И.П. Павлова Минздрава России
ул. Льва Толстого, 6--8, кор. № 54, 197089 Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: saveleva@rihophe.site

Поступила в редакцию 12.12.2023 г.

После доработки 15.12.2023 г.

Принята к публикации 16.12.2023 г.

Представлена методика одновременного определения девяти уремических токсинов и холина в сыворотке крови. Целевые вещества подобраны по литературным данным в качестве перспективных биомаркеров для установления тяжести и характера прогрессирования иммуноглобулин А нефропатии — заболевания почек, приводящего к потере трудоспособности, а при отсутствии своевременного лечения — к смерти людей молодого и среднего возраста. С применением ультрафильтрации достигается раздельное определение свободных и связанных с белками крови индольных уремиических токсинов. Использование высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией высокого разрешения обеспечивает удовлетворительную точность анализа при отсутствии полного хроматографического разделения аналитов в стандартных условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ. При проведении градуировки в качестве суррогатной сыворотки крови использовали раствор альбумина в фосфатном буферном растворе. Концентрация белка 45 мг/мл и pH 7.4 соответствуют этим характеристикам нативной сыворотки крови. В рамках пилотного эксперимента показана перспективность определения важнейших показателей состояния кишечного микробиома — холина и триметиламинооксида в сухих пятнах крови.

Ключевые слова: уремические токсины, холин, сыворотка крови, иммуноглобулин А нефропатия, высокоэффективная жидкостная хроматография с тандемным масс-спектрометрическим детектированием высокого разрешения (ВЭЖХ-МС/МС ВР), триметиламинооксид (ТМАО), сухие пятна крови.

DOI: 10.31857/S0044450224080094, EDN: tjelgc

Болезнь Берже, или иммуноглобулин А нефропатия (IgA-нефропатия), — тяжелое заболевание почек, проявляющееся, как правило, в молодом возрасте [1]. Доступные в настоящее время способы диагностики IgA-нефропатии основаны на исследовании биоптического материала [2], но даже и эти инвазивные и небезопасные для пациентов методы далеко не всегда способны

помочь установить достоверные различия между прогрессирующими и не прогрессирующими формами течения IgA-нефропатии [3].

В последние годы появляется все больше данных о вовлеченности малых молекул, циркулирующих в крови, в развитие целого ряда заболеваний, в том числе и нефрологических. Метаболиты крови, ассоциированные

с хроническими заболеваниями почек, получили название уремических токсинов. Уремические токсины можно определить как органические соединения, которые не могут быть выведены из организма и поэтому накапливаются в кровотоке, достигая различных органов, включая почки и сердце. Уремические токсины до конца не изучены, но хорошо известно, что их содержание в плазме крови прогрессивно увеличивается в острых фазах болезней почек, способствуя ряду функциональных изменений [4]. При этом уровни содержания и тем более динамика уремиических токсинов в крови пациентов при IgA-нефропатии до настоящего времени не установлены.

Доказано, что сердечно-сосудистая смертность значительно выше у лиц с нарушениями функции почек [5], поэтому вопросы профилактики и диагностики почечной дисфункции весьма актуальны. У пациентов с почечной дисфункцией, как правило, микрофлора кишечника становится несбалансированной и неупорядоченной [6]. Ось “кишечник—почки—сердце” при хронической болезни почек привлекает все большее внимание [7]. Накопление уремиических токсинов, продуцируемых микроорганизмами кишечника, приводит к возникновению хронической болезни почек, а также повышает риск развития сердечно-сосудистых событий. Триметиламин-N-оксид (ТМАО), образующийся в результате потребления с пищей холина, L-карнитина и бетаина, является одним из уремиических токсинов, вызывающих поражение почек и сердца, развитие атеросклероза и других патологий [8]. Нарушение функции почек в сочетании с дисбиозом микробиоты кишечника приводит к увеличению концентрации циркулирующего ТМАО [9, 10], что, в свою очередь, усугубляет повреждение почек, способствуя развитию воспалительных процессов [11]. Повышенное содержание холина в циркулирующей крови изменяет состав микроорганизмов кишечника [12]. Эти данные позволяют предположить, что существует тесное взаимодействие между холином крови и микробиомом, которое приводит к различным режимам активации катаболических путей [13]. Связь кишечник—почки с метаболическими позициями исследована в работе [14]. Особый интерес в этой области вызывают продукты микробной биodeградации аминокислот и им подобных нутриентов, в частности индольные метаболиты триптофана: индолуксусная кислота, индоксилглюкуронид и индоксилсульфат [15], ТМАО как продукт биodeградации карнитина и холина, фенилглюкуронид и фенилсульфат, образующиеся при биodeградации тирозина, гиппуровая кислота и фенилацетилглутамин, связанные с биodeградацией фенилаланина [16, 17]. Биомаркером микробной биodeградации фурановых жирных кислот является 3-карбокси-4-метил-5-пропил-2-фуранпропионовая кислота

(КМПФ), ассоциированная не только с почечной дисфункцией, но и с диабетом [18].

На основании анализа литературы сформирована группа биомаркеров почечной дисфункции, ассоциированной с альтерацией кишечного микробиома, включающая классические уремиические токсины и холин. Часть уремиических токсинов обнаруживается в крови в виде сульфатов и глюкуронидов, а холин, хотя и циркулирует в системном кровотоке в свободном виде, как и все четвертичные аммониевые основания, не образует летучих производных. Этими обстоятельствами продиктована необходимость применения жидкостной хроматографии для определения выбранных биомаркеров. Высокоэффективная жидкостная хроматография в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) является золотым стандартом для разделения, идентификации и определения уремиических токсинов [19]. Пока не существует согласованного мнения относительно биологических эффектов свободных и связанных с белком уремиических токсинов. Авторы работы [20] полагают, что факторами риска являются свободные (не связанные с белком) уремиические токсины, в других же работах утверждается, что более информативным показателем является их общее содержание в сыворотке или плазме [21]. До тех пор пока этот вопрос остается дискуссионным, отдельное определение свободных и связанных с белками индольных уремиических токсинов сохраняет актуальность.

Цель настоящей работы — разработка методики определения в сыворотке крови группы биогенных соединений, включающей девять уремиических токсинов и холин.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы и стандарты. В качестве стандартных образцов использовали реактивы производства Sigma-Aldrich (США): индолуксусную кислоту (кат. № 87-51-4), индоксилглюкуронид (кат. № 35804-66-1), индоксилсульфат (кат. № 2642-37-7), триметиламиноксид (ТМАО, кат. № 1184-78-7), фенилацетилглутамин (кат. № 28047-15-6), 3-карбокси-4-метил-5-пропил-2-фуранпропионовую кислоту (КМПФ, кат. № 86879-39-2), фенилсульфат (кат. № 1733-88-6), фенилглюкуронид (кат. № 17685-05-1), гиппуровую кислоту (кат. № 495-69-2), холин (кат. № 67-48-1). В качестве антиоксиданта использовали дитиотрейтол (Servicebio, Китай, артикул: GC205010-1G). Для приготовления растворов анализов и элюентов использовали ацетонитрил (Panreac, Испания, кат. № 221881.1611), метанол для ВЭЖХ (J.T. Baker, Индия, кат. № 8402), муравьиную кислоту (Sigma, США, кат. № 251364).

Образцы сыворотки крови для анализа были предоставлены Институтом нефрологии

при Первом медицинском университете им. И.П. Павлова. Образцы отбирали от 10 пациентов с установленным после биопсии почки диагнозом “IgA-нефропатия” и от 10 пациентов с отсутствием такого диагноза. Различное физиологическое состояние доноров позволяло получить широкий разброс концентраций аналитов в сыворотке крови и сориентироваться в диапазонах концентраций при разработке методики для последующего диагностического применения. Образцы поступили в лабораторию зашифрованными, со скрытой информацией о персональных и клинических данных.

При разработке методики использовали объединенную сыворотку крови, полученную смешением сыворотки крови шести доноров. При оценке возможности применения техники сухих пятен для определения холина и ТМАО в цельной крови использовали свежееотобранную кровь донора. Для отбора сухих пятен цельной крови использовали карты Protein Saver 903 Card (Whatman, США, кат. № 10534320) и карты для сбора и хранения биологического материала ТУ 9398-001-27207261-2015 (ООО “Биохран”, Россия).

Подготовка образцов для анализа. Включение холина в группу аналитов предъявило особые требования к подготовке проб к анализу, поскольку известно, что при комнатной температуре концентрация холина в плазме и сыворотке крови повышается *ex vivo* за счет остаточного действия эстераз, осуществляющих гидролиз фосфатидилхолина с образованием свободного холина [22]. С учетом этого обстоятельства все процедуры подготовки проб к анализу проводили при температуре не выше 4°C. При соблюдении температурного режима концентрации всех аналитов, включая холин, оставались стабильными в течение по крайней мере 8 ч. Фракции свободных (не связанных с белком) соединений отделяли методом ультрамикрофильтрации. Подготовка сыворотки крови для определения свободных и связанных с белками соединений проводили согласно процедуре, описанной в работе [23]. Для определения свободных компонентов 100 мкл сыворотки переносили в устройство для ультрафильтрации (центробежный фильтр Amicon Ultra-0.5 с мембраной Ultracel-3k, предел отсечения по массе: 3КДа) и центрифугировали в течение 15 мин со скоростью 14 000 об/мин (радиус ротора 6 см) при 4°C. Для определения общего содержания соединений (свободных и связанных с белками крови) к 100 мкл сыворотки крови добавляли 300 мкл метанола, тщательно перемешивали и центрифугировали 15 мин со скоростью 14 000 об/мин при указанных выше условиях. Схема подготовки сыворотки или плазмы к анализу для определения общего содержания уремических токсинов и их фракции, не связанной с белками, представлена на рис. 1.

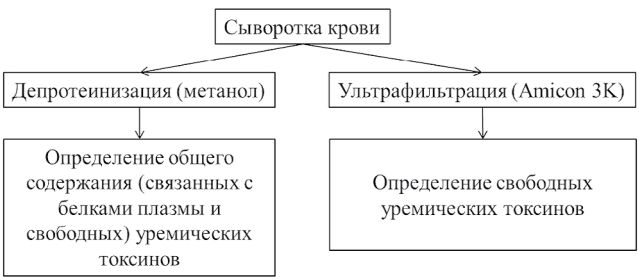


Рис. 1. Схема определения свободных и связанных с белками уремических токсинов в сыворотке крови.

Хромато-масс-спектрометрический анализ.

Для определения уремических токсинов использовали ВЭЖХ-МС/МС высокого разрешения, приборный комплекс фирмы Thermo Scientific (США), хроматограф модели Dionex UltiMate 3000 и масс-спектрометр Q Exactive электроспрей HESI – II. Условия анализа приведены в табл. 1. Аналитические характеристики определения уремических токсинов, в том числе хроматографические времена удерживания и характеристичные массовые числа (*m/z*) даны в табл. 2.

При данных условиях продолжительность анализа одной пробы составила 15 мин. Перед каждой тестовой пробой анализировали холостую пробу. Эффект переноса в исследованном диапазоне концентраций для всех аналитов отсутствовал.

С помощью гидрофильной хроматографии возможно более эффективное разделение компонентов, в использованном же нами стандартном режиме обращенно-фазовой ВЭЖХ

Таблица 1. Условия хроматографического разделения аналитов

Колонка	Agilent SB-C8: 150 мм × 4.6 мм × 1.8 мкм
Подвижная фаза	Фаза А: 0.1%-ная муравьиная кислота в деионизованной воде. Фаза Б: 0.1%-ная муравьиная кислота в ацетонитриле
Градиентный режим элюирования	0–0.5 мин (10% Б); 0.5–8 мин (от 10% Б до 90% Б); 8–10 мин (90% Б); 10–10.1 мин (от 90% Б до 10% Б); 10.1–14 мин (10% Б)
Скорость подвижной фазы	0.4 мл/мин
Температура термостата колонки	35°C

Таблица 2. Аналитические характеристики уремических токсинов и холина

Аналит	[M+H] ⁺	[M-H] ⁻	Выбранные ионные реакции	Время удерживания, мин
Индолуксусная кислота	176.0706	—	176.0706→130.0649	6.5
Индоксилглюкуронид		308.0770	308.0770→113.0230	7.8
Индоксилсульфат		212.0023	212.0023→79.9558	7.2
ТМАО	76.0757	—	76.0757→58.0652	3.9
Фенилацетилглутамин	265.1180	—	265.1180→130.0496	8.0
КМПФ	—	239.0925	239.0925→195.1016	10.4
Фенилсульфат	—	172.9914	—	7.8
Фенилглюкуронид	—	269.0668	—	7.8
Гиппуровая кислота	—	178.0509	—	8.3
Холин	104.1069	—	—	3.8

не достигалось разделение пиков индоксилглюкуронида, индоксилсульфата и фенилглюкуронида, однако в условиях масс-спектрометрии высокого разрешения это не влияло на точность анализа. В случае масс-спектрометрии низкого разрешения потребуется оптимизация условий хроматографического разделения.

Анализ сухих пятен крови. Каплю цельной крови наносили на подложки (картриджи) для отбора сухих пятен импортного (Whatman 903) и отечественного (Биохран) производства. После нанесения образец высушивали в течение около 2 ч при комнатной температуре, исключая возможность загрязнения другими образцами. Для элюирования аналитов в пробирку типа Эппендорф емк. 5 мл помещали вырезанное пятно крови, добавляли 100 мкл раствора дитиотреитола с концентрацией 20 мг/мл и 100 мкл деионизированной воды. Содержимое пробирки тщательно перемешивали в вортексе в течение 20 мин, затем добавляли 600 мкл ацетонитрила и встряхивали еще 15 мин, после чего центрифугировали (10 мин, 14 000 об/мин, радиус ротора 6 см, 4°C), отделяли супернатант и анализировали методом ВЭЖХ-МС/МС в тех же условиях, которые использовали для анализа сыворотки крови.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Особенность методики определения девяти уремических токсинов и холина в сыворотке крови заключается в том, что она объединяет в одном анализе соединения с разными физико-химическими свойствами в широких (2 и 3 порядка величины) диапазонах концентраций. Все определяемые соединения являются

биогенными, получить сыворотку крови, в которой бы они отсутствовали, не представляется возможным. В отсутствие доступа к изотопно меченым стандартам определяемых соединений мы предприняли попытки подбора внутренних стандартов среди абиогенных веществ с элементами структурного подобия в отношении определяемых аналитов, однако эксперименты показали, что наименьшая погрешность определений достигается при использовании метода внешнего стандарта.

Выбор условий масс-спектрометрического определения. При разработке методики существовала проблема значительной разницы концентраций аналитов в сыворотке крови. Компоненты, при регистрации которых в режиме полного ионного тока наблюдались матричные влияния (индолуксусная кислота, индоксилглюкуронид, индоксилсульфат, ТМАО, фенилацетилглутамин, КМПФ), определяли в режиме тандемной масс-спектрометрии (МС/МС) с регистрацией выбранных реакций. Соединения, свободные от матричных интерференций (фенилсульфат, фенилглюкуронид, гиппуровая кислота, холин), определяли в режиме регистрации полного ионного тока. Из-за различной природы соединений детектирование осуществляли одновременно в режимах положительной и отрицательной ионизации. Поскольку общее количество аналитов в методике относительно невелико, использование “гибридного” протокола детектирования не усложняло процедуру анализа.

Градуировка с использованием суррогатной биоматрицы. Для определения свободных уремических токсинов в плазме крови построили градуировочные графики в диапазоне

концентраций 0.0010–10.0 мкг/мл. Так как все определяемые соединения эндогенные, невозможно получить градуировочные зависимости с использованием плазмы крови с внесением аналитов. Необходимо подобрать оптимальную суррогатную матрицу для градуировочных определений.

Проблема суррогатных биоматриц в метаболическом анализе решается или использованием стандартизованного образца, в котором концентрации определяемых компонентов точно установлены и не меняются во времени, либо полным устранением (инкубирование с ферментами, экстракция) определяемых веществ. Ни один из перечисленных подходов с учетом природы аналитов не мог быть использован при разработке настоящей методики. В качестве суррогатной сыворотки крови использовали раствор альбумина с концентрацией 45 мг/мл в фосфатном буферном растворе (25 мМ, pH 7.4). Таким образом, pH, вязкость, плотность и содержание растворенного белка в суррогатной матрице были идентичны этим свойствам природной сыворотки крови. В приготовленную таким образом суррогатную матрицу вносили модельную смесь аналитов, итоговые концентрации которых в градуировочных смесях составляли 0.01, 0.05, 0.1, 1.0 и 10 мкг/мл по каждому веществу. Далее для определения суммарного содержания свободных и связанных с белками крови уремических токсинов и холина в градуировочных растворах подготовку проб и анализ проводили по процедурам, описанным в “Экспериментальной части”. Коэффициенты детерминации (R^2) градуировочных зависимостей составляют не менее 0.993.

Воспроизводимость результатов определения целевых компонентов оценивали следующим образом: объединенный образец сыворотки крови разделяли на пять аликвот и определяли фоновые концентрации целевых компонентов. Затем в объединенный образец сыворотки крови добавляли аналитические стандарты с известной концентрацией и анализировали. Показатели контроля качества определяли в рамках одной аналитической серии для образцов с нативным содержанием определяемых соединений и с добавкой. Добавки стандартной смеси составляли от 0.001 до 1 мкг/мл в зависимости от фонового содержания аналита в плазме. Показателями контроля качества служили величины стандартного отклонения (s , %). Результаты оценки показали удовлетворительную воспроизводимость методики — стандартное отклонение не превышало 20% во всех образцах для контроля. Результаты оценки воспроизводимости методики для концентраций, приблизительно соответствующих удвоенным уровням фоновых концентраций, представлены в табл. 3.

Таблица 3. Результаты оценки воспроизводимости методики

Аналит	Линейный диапазон, мкг/мл	s , %
КМПФ	0.01–10.0	2
ТМАО	0.01–10.0	12
Гиппуровая кислота	0.1–10.0	8
Индоксилглюкуронид	0.01–1.0	8
Индоксилсульфат	0.01–1.0	4
Индолюксусная кислота	0.1–10.0	3
Фенилглюкуронид	0.01–1.0	10
Фенилсульфат	0.01–10.0	9
Фенилацетилглутамин	0.01–1.0	8
Холин	0.1–10.0	3

Апробацию методики проводили с использованием рандомизированных образцов плазмы крови 10 пациентов нефрологической клиники с установленным диагнозом “Нефропатия IgA” и 10 человек с нормальной функцией почек. Всего проанализировали 20 образцов. Во всех образцах сыворотки крови определили искомые аналиты, за исключением фенилглюкуронида, содержание которого в пяти из 20 проанализированных образцов сыворотки крови было ниже предела определения.

В табл. 4 представлены установленные нами интервалы концентраций и медианные значения концентраций уремических токсинов и холина в сыворотке крови, а также опорные сведения о концентрациях этих соединений в плазме/сыворотке/цельной крови (источник [24] не уточняет) в норме и при тяжелой патологии почек.

Опорные данные по содержанию свободного холина в сыворотке крови приведены из оригинальных источников [25, 26], поскольку холин, как отмечено ранее, не относится к уремическим токсинам. В базе данных [24] собраны концентрации без указания характера биообразца, а также без указания использованного метода. Некоторые результаты получены для малых выборок: от 10 до 1 человека. Концентрации, соответствующие патологии, преимущественно относятся к терминальным стадиям заболевания для пациентов, находящихся на гемодиализе. Кроме того, отсутствие патологии в большинстве случаев устанавливается весьма условно. Для фенилглюкуронида и индоксилглюкуронида опорные данные отсутствуют. В целом можно отметить, что интервалы концентраций уремических токсинов в сыворотке/плазме крови настолько широки, что определение точечных концентраций представляется малопродуктивным для диагностики. Скорее может быть полезен

Таблица 4. Установленные медианные значения и интервалы концентраций девяти уремиических токсинов и холина в сыворотке крови по результатам анализа 20 образцов в сравнении с данными из “Базы данных уремиических токсинов” [24]

Аналит	Медиана, мкг/мл	Интервал концентраций, мкг/мл		
		наши данные	литературные данные	
			норма	патология
КМПФ	2.2	0.077–5.2	4.6 ± 1.8	26 ± 10
ТМАО	0.70	0.37–1.5	2.8 ± 1.5	7.5 ± 2.4
Гиппуровая кислота	1.2	0.54–6.5	3.0 ± 2.0	109 ± 65
Индоксилглюкуронид	0.13	0.070–0.53	—	—
Индоксилсульфат, свободный	0.42	0.17–1.1	0.53 ± 0.29	3.8 ± 2.5
Индоксил сульфат, общее количество	3.3	1.1–5.2	0.54 ± 0.4	37 ± 26
Индолуксусная кислота, свободная	0.13	0.10–0.29	0.49 ± 0.34	1.3 ± 0.8
Индолуксусная кислота, общее количество	0.51	0.29–0.81	17.5 ± 17.5	1.0 ± 0.7
Фенилглюкуронид	0.01	0.004*–0.033	—	—
Фенилацетилглутамин	0.57	0.22–1.5	0.4 ± 0.2	52.3 ± 30.0
Фенилсульфат	0.26	0.11–1.2	0.48 ± 0.3	1.9 ± 0.6
Холин	2.2	1.2–3.2	$<0.7\text{--}2.0$ [25]	$3.7. \pm 0.9$ [25, 26]

*Ниже предела определения.

мониторинг динамики профиля уремиических токсинов и холина в сыворотке крови конкретного пациента для контроля прогрессирования заболевания и эффективности лечения.

Закономерным желанием аналитиков является определение как можно большего количества аналитов по одной методике, следствием чего являются многочисленные примеры одновременного определения нескольких десятков соединений в одной процедуре. На основании анализа доступных источников можно полагать, что для определения уремиических токсинов многоцелевые методики пока не созданы. Причины, вероятно, кроются в значительном разбросе концентраций уремиических токсинов, их различной способности связываться с белками крови, а также образовывать глюкурониды и сульфаты. Методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектором удалось определить четыре аналита [27], методом ВЭЖХ-МС/МС определили пять аналитов по одной методике [28]. Рекордным количеством остается 10 уремиических токсинов по одной ВЭЖХ-МС/МС-методике, не охватывающей определение холина [23], в то время как циркулирующий холин крови, наряду с продуктом его микробной трансформации ТМАО являются важнейшими биомаркерами состояния кишечного микробиома [29]. Определение холина и ТМАО в сыворотке или плазме крови не входит

в перечень стандартных анализов, выполняемых клиническими лабораториями. Ввиду отмеченной ранее нестабильности холина в плазме или сыворотке хранение и транспортировка биопроб из клиник в диагностические центры представляет проблему. В этой связи привлекательной представляется техника сухих пятен крови, предоставляющая возможность транспортировки проб в почтовых конвертах. Если объектом анализа является не сыворотка или плазма, а цельная кровь, то отбор пробы может происходить в мобильном медицинском пункте, не оснащенном холодильником и центрифугой. Интересные данные сравнительного исследования содержания холина в плазме и цельной крови представлены в работе [30]. Цельная кровь перед анализом была гемолизирована. Наблюдали положительную корреляцию между содержанием холина в цельной крови и плазме ($r = 0.42$, $p \leq 0.001$). Авторы полагают, что содержание холина в цельной крови отражает его внутриклеточные концентрации, которые, в свою очередь, коррелируют с концентрациями холина в цитозоле. То обстоятельство, что содержание холина в плазме или сыворотке может быть установлено путем пересчета его концентрации в цельной крови, открывает возможности для малоинвазивного экспресс-тестирования содержания холина в капле крови и, возможно, даже в сухих пятнах крови.

В рамках настоящего исследования провели пилотный эксперимент по оценке возможности определения холина и ТМАО в сухих пятнах цельной крови. При разработке методики экстракции аналитов из сухих пятен крови применяли различные растворители: метанол, ацетонитрил, водный раствор дитиотреитола с концентрацией 20 мг/мл и 0.9%-ный водный раствор хлорида натрия. При использовании для экстракции 0.9%-ного водного раствора хлорида натрия не происходил гемолиз крови, и благодаря этому в образцы не попадали фрагменты клеток крови и их содержимое. Однако подавление интенсивности ионизации хлоридом натрия при ВЭЖХ-МС/МС-анализе оказалось более значительным, чем матричный эффект от гемолиза клеток крови. В связи с этим для экстракции аналитов из сухих пятен использовали раствор дитиотреитола (ДТТ) в деионизованной воде. Схема подготовки проб к анализу в технике сухих пятен представлена на рис. 2.

Не так давно в России начато производство картриджей для отбора сухих пятен биоматериалов. Картриджи разработаны в целях генетического анализа, однако интересно оценить их применимость и в биоаналитических исследованиях.

Сравнение свойств специализированных картриджей Whatman и Биохран. Методику сухих пятен разрабатывали на двух видах специализированных картриджей: Whatman 903 и Биохран. Кровь отбирали и наносили на картриджи, по пять образцов на каждый вид картриджей. Далее образцы высушивали в течение 2 ч, подготавливали к анализу и анализировали описанным выше методом. Результаты сравнительной оценки применимости импортных и отечественных картриджей для определения холина и ТМАО в цельной крови иллюстрирует рис. 3. Как следует

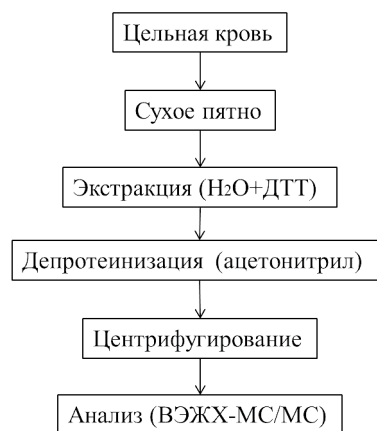


Рис. 2. Схема определения холина и триметиламин-N-оксида (ТМАО) в сухих пятнах крови.

из рисунка, в случае определения холина разница интенсивностей сигналов составляет 22%, причем интенсивность сигнала при анализе образцов, нанесенных на картриджи Биохран, выше. В случае определения ТМАО интенсивность сигнала при анализе образцов, нанесенных на картриджи Биохран, ниже на 93%. Таким образом, для разработки методики определения холина в сухих пятнах крови подходят оба вида картриджей, причем отечественные могут оказаться предпочтительнее. Для определения обоих аналитов в одной методике картриджи Биохран пока не подходят. В планах их производителя разработка картриджей для биоаналитического применения.

Пилотный эксперимент показал перспективность исследований по разработке методик для клинического применения в технике сухих пятен.

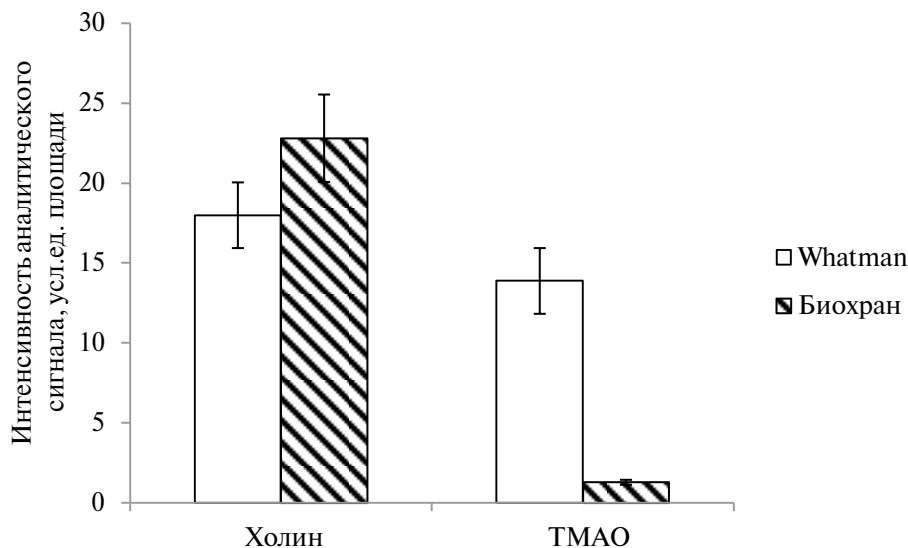


Рис. 3. Результаты сравнения картриджей Whatman 903 и Биохран на примере определения холина и триметиламин-N-оксида (ТМАО) в технике сухих пятен крови.

* * *

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Разработанная методика обеспечивает определение в одном анализе девяти уремиических токсинов и холина в сыворотке крови. Суммарная продолжительность анализа и пробоподготовки составляет 30 мин, что позволяет отнести разработанную методику к экспресс-анализу. Для отдельного определения свободных и связанных с белком индольных токсинов использован метод ультрафильтрации. Применение раствора альбумина в фосфатном буферном растворе в качестве суррогатной матрицы при анализе градуировочных растворов позволило учесть матричные влияния сыворотки крови. Применение масс-спектрометрии высокого разрешения дает возможность снизить требования к эффективности хроматографического разделения аналитов. Такой подход приемлем для исследовательских лабораторий, выполняющих различные аналитические задачи без замены хроматографической колонки в стандартном режиме обращенно-фазовой ВЭЖХ. Для лабораторий с потоковым однотипным анализом такой подход нельзя назвать рациональным. При транслировании методики на более доступное аналитическое оборудование потребуется оптимизация условий хроматографического разделения. В рамках пилотного эксперимента показана целесообразность проведения исследований по оценке возможности определения холина и ТМАО в сухих пятнах крови.

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории биохимии Института нефрологии при Первом медицинском университете им. акад. И.П. Павлова за предоставление образцов для анализа.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда 23-15-00510.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г., ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого донора было получено информированное добровольное согласие.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

1. Nair R., Walker P.D. Is IgA nephropathy the commonest primary glomerulopathy among young adults in the USA // *Kidney Int.* 2006. V. 69. P. 1455.
2. Шилов Е.М., Бобкова И.Н., Колина И.Б., Камышова Е.С. Клинические рекомендации по диагностике и лечению IgA-нефропатии // *Нефрология.* 2015. Т. 19. № 6. С. 83.
3. Boyd J.K., Barratt J. Immune complex formation in IgA nephropathy: CD89 a 'saint' or a 'sinner'? // *Kidney Int.* 2010. V. 78. P. 1211.
4. Falconi C.A., Junho C.V.C., Fogaça-Ruiz F., Vernier I.C.S., da Cunha R.S., Stinghen A.E.M., et al. Uremic toxins: An alarming danger concerning the cardiovascular system // *Front. Physiol.* 2021. V. 12. Article 686249.
5. Go A.S., Chertow G.M., Fan D. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization // *N. Engl. J. Med.* 2004. V. 351. № 13. P. 1296.
6. Noce A., Marchetti M., Marrone G. Link between gut microbiota dysbiosis and chronic kidney disease // *Eur. Rev. Med. Pharmacol.* 2022. V. 26. № 6. P. 2057.
7. Huang Y., Xin W., Xiong J. The intestinal microbiota and metabolites in the gut-kidney-heart axis of chronic kidney disease // *Front Pharmacol.* 2022. V. 13. Article 837500.
8. Bennett B., Vallim T., Wang Z. Trimethylamine-N-oxide, a metabolite associated with atherosclerosis, exhibits complex genetic and dietary regulation // *Cell Metab.* 2013. V. 17. № 1. P. 49.
9. Boini K.M., Hussain T., Li P.-L. Trimethylamine-N-oxide instigates NLRP3 inflammasome activation and endothelial dysfunction // *Cell Physiol. Biochem.* 2017. V. 44. № 1. P. 152.
10. Ma G., Pan B., Chen Y., Guo C., Zhao M.M., Zheng L.M., Chen B.X. Trimethylamine N-oxide in atherogenesis: impairing endothelial self-repair capacity and enhancing monocyte adhesion // *Biosci. Rep.* 2017. V. 37. № 2. BSR20160244.
11. Zheng Y., Tang Z., You L., Wu Y., Liu J., Xue J. Trimethylamine-N-oxide is an independent risk factor for hospitalization events in patients receiving maintenance hemodialysis // *Ren Fail.* 2020. V. 42. № 1. P. 580.
12. Yoo W., Zieba J.K., Foegeding N.J., Torres T.P., Shelton C.D., Shealy N.G. High-fat diet-induced colonocyte dysfunction escalates microbiota-derived trimethylamine N-oxide // *Science.* 2021. V. 373. P. 813.
13. Yoo W., Zieba J.K., Foegeding N.J., Torres T.P., Shelton C.D., Shealy N.G., et al. High-fat diet-induced colonocyte dysfunction escalates microbiota-derived trimethylamine N-oxide // *Science.* 2021. V. 373. P. 813.
14. Xu Y., Kong X., Zhu Y., Xu J., Mao H., Li J., et al. Contribution of gut microbiota toward renal function

- in sepsis // *Front. Microbiol.* 2022. V. 13. Article 985283.
15. *Гецина М.Л., Черневская Е.А., Белобородова Н.В.* Роль общих для человека и микробиоты метаболитов триптофана при тяжелых заболеваниях и критических состояниях // *Клиническая практика.* 2020. Т. 11. № 1. С. 92. (*Getsina M.L., Chernevskaya E.A., Beloborodova N.V.* The role of human and microbial metabolites of triptophane in severe diseases and critical Ill (review) // *J. Clin. Pract.* 2020. V. 11. № 1. P. 92.)
 16. *Tanaka H., Sirich T.L., Plummer N.S., Weaver D.S., Meyer T.W.* An enlarged profile of uremic solutes // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 8. Article 0135657. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135657>
 17. *Mair R.D., Sirich T.L., Plummer N.S., Meyer T.W.* Characteristics of colon-derived uremic solutes // *Clin. J. of the American Soc Nephrol.* 2018. V. 13. № 9. P. 1398–404. <https://doi.org/10.2215/CJ.N.03150318>.
 18. *Liu G., Gibson R.A., Callahan D., Guo X.-F., Li D., Sinclair A.J.* Pure omega 3 polyunsaturated fatty acids (EPA, DPA or DHA) are associated with increased plasma levels of 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropanoic acid (CMPF) in a short-term study in women // *Food Funct.* 2020. V. 11. № 3. P. 2058. <https://doi.org/10.1039/c9fo02440a>
 19. *Kikuchi K., Itoh Y., Tateoka R., Ezawa A., Murakami K., Niwa T.* Metabolomic search for uremic toxins as indicators of the effect of an oral sorbent AST-120 by liquid chromatography/tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B.* 2010. V. 878. № 29. P. 2997. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2010.09.006>
 20. *Liabeuf S., Barreto D.V., Barreto F.C., Meert N., Glorieux G., Schepers E., et al.* Free p-cresylsulphate is a predictor of mortality in patients at different stages of chronic kidney disease // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010. V. 25. P. 1183. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp592>
 21. *Machado T.S., Poitevin S., Paul P., McKay N., Jourde-Chiche N., Legris T., et al.* Indoxyl sulfate upregulates liver P-glycoprotein expression and activity through aryl hydrocarbon receptor signaling // *Clin. J. Am. Soc Nephrol.* 2018. V. 29. P. 906. <https://doi.org/10.1681/AS.N.2017030361>
 22. *Ohkawa R., Kurano M., Sakai N., Kishimoto T., Nojiri T., Igarashi K. et al.* Measurement of plasma choline in acute coronary syndrome: Importance of suitable sampling conditions for this assay // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. № 1. P. 4725.
 23. *Fabresse N., Uteem I., Lamy E., Massy Z., Larabi I.A., Alvarez J.-C.* Quantification of free and protein bound uremic toxins in human serum by LC-MS/MS: Comparison of rapid equilibrium dialysis and ultrafiltration // *Clin. Chim. Acta.* 2020. V. 507. P. 228. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.04.032>
 24. Электронный ресурс Uremic Solutes Database / database.uremic-toxins.org (дата обращения 11.12.2023).
 25. *Garcia E., Shalaurova I., Matyus S.P., Wolak-Dinsmore J., Oskardmay D.N., Connelly M.A.* Quantification of choline in serum and plasma using a clinical nuclear magnetic resonance analyzer // *Clin Chim Acta.* 2022. V. 1. № 524. P. 106. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2021.11.031>
 26. *Ilcol Y.O., Dilek K., Yurtkuran M., Ulus I.* Changes of plasma free choline and choline-containing compounds' concentrations and choline loss during hemodialysis in ESRD patients // *Clin. Biochem.* 2002. V. 35. № 3. P. 233. [https://doi.org/10.1016/s0009-9120\(02\)00298-9](https://doi.org/10.1016/s0009-9120(02)00298-9)
 27. *Silva L.A.P., Campagnolo S., Fernandes S.R., Marques S.S., Barreiros L., Sampaio-Maia B. Segundo M.A.* Rapid and sustainable HPLC method for the determination of uremic toxins in human plasma samples // *Anal. Bioanal. Chem.* 2023. V. 415. P. 683.
 28. *Calaf R., Cerini C., Genovesio C., Verhaeghe P., Jourde-Chiche N., Berge-LeFranc D.* Determination of uremic solutes in biological fluids of chronic kidney disease patients by HPLC assay // *J. Chromatogr. B.* 2011. V. 879. № 23. P. 2281. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.06.014>
 29. *Zhan X., Fletcher L., Huyben D., Cai H., Dingle S., Qi N., et al.* Choline supplementation regulates gut microbiome diversity, gut epithelial activity, and the cytokine gene expression in gilts // *Front. Nutr.* 2023. V. 10. Article 1101519. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1101519>
 30. *Awwad H.M., Kirsch S.H., Geise J., Obeid R.* Measurement of concentrations of whole blood levels of choline, betaine, and dimethylglycine and their relations to plasma levels // *J. Chromatogr. B.* 2014. V. 957. P. 41.

JOINT DETERMINATION OF NINE UREMIC TOXINS AND CHOLINE IN BLOOD SERUM USING HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH TANDEM MASS SPECTROMETRIC DETECTION

T. I. Alyushina^a, E. I. Savelyeva^{a,*}, V. A. Dobronravov^b

^a *Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology, and Human Ecology of the Federal Medical-Biological Agency of Russia, 188663 Kuzmolovsky Settlement, Leningrad Region, Russia*

^b *Research Institute of Nephrology, I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, 197089 St. Petersburg, Russia*

**E-mail: saveleva@rihophe.site*

Abstract. This paper presents a method for the simultaneous determination of nine uremic toxins and choline in blood serum. The target substances were selected based on literature data as potential biomarkers for assessing the severity and progression of immunoglobulin A nephropathy, a kidney disease that leads to disability, and, without timely treatment, death in young and middle-aged individuals. Ultrafiltration is used to separately determine free and protein-bound indolic uremic toxins in the blood. The use of high-performance liquid chromatography combined with high-resolution tandem mass spectrometry ensures satisfactory accuracy of the analysis without complete chromatographic separation of analytes under standard reversed-phase HPLC conditions. For calibration purposes, an albumin solution in phosphate buffer was used as a surrogate for blood serum. The protein concentration of 45 mg/mL and pH 7.4 match the characteristics of native blood serum. A pilot experiment demonstrated the feasibility of determining key indicators of the gut microbiome's state—choline and trimethylamine N-oxide (TMAO)—in dried blood spots.

Keywords: uremic toxins, choline, blood serum, immunoglobulin A nephropathy, high-performance liquid chromatography with high-resolution tandem mass spectrometric detection (HPLC-MS/MS HR), trimethylamine N-oxide (TMAO), dried blood spots.

УДК 615.1, 615.074

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕВЯТИ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

© 2024 г. О. В. Фатеенкова^{а,*}, А. М. Савватеев^{а,**}, А. В. Браун^б,
В. Л. Белобородов^а, И. В. Гравель^а

^аФедеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

Минздрава России (Сеченовский университет)

ул. Трубецкая, 8, стр. 2, 119991 Москва, Россия

^б27 Научный Центр Министерства обороны Российской Федерации

Бригадирский переулок, 13, 105005 Москва, Россия

*E-mail: Fateenkova-Olga@mail.ru

**E-mail: Savvateev_A_M@staff.sechenov.ru

Поступила в редакцию 14.12.2023 г.

После доработки 14.02.2024 г.

Принята к публикации 15.02.2024 г.

Разработана методика одновременного определения фосфорорганических пестицидов (ФОП) диазинона, диметоата, ометоата, пиримифос-метила, пиримифос-этила, малатиона, малаоксона, хлорпирифос-метила, фозалона в лекарственном растительном сырье методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения. В методике используется экспрессный способ подготовки проб путем экстракции ацетонитрилом измельченного растительного сырья. Оптимизированы условия анализа в варианте обращенно-фазовой хроматографии. Определение осуществляется методом внутреннего стандарта с использованием дейтерированных стандартов малатион-d6 и дихлорфос-d6 на основе двух наиболее интенсивных, специфичных для каждого индивидуального ФОП, ионных реакций. Методика апробирована на примере растительного сырья – корневищ с корнями валерианы лекарственной (*Rhizomata cum radicibus Valerianae officinalis*) и валидирована по параметрам: специфичность, линейность, правильность, аналитическая область, предел количественного определения, прецизионность, матричный эффект. Предложенная методика может быть использована для определения указанных ФОП в широком диапазоне концентраций от 0.01 до 10 000 нг/г сырья в лекарственном и сельскохозяйственном растениеводстве.

Ключевые слова: фосфорорганические пестициды, лекарственное растительное сырье, масс-спектрометрия высокого разрешения, высокоэффективная жидкостная хроматография, валидация.

DOI: 10.31857/S0044450224080104, EDN: tjdxha

Фосфорорганические пестициды (ФОП) широко применяются на всех этапах выращивания растений. С 1960-х гг. они пришли на смену персистентным хлорорганическим пестицидам, которые являются популярным и востребованным классом современных пестицидов [1, 2].

В литературе практически отсутствуют сведения о том, насколько широко и в каких объемах применяется тот или иной конкретный представитель группы ФОП производителями и поставщиками лекарственного растительного сырья и сельхозпродукции. Отсутствуют также

статистические данные о том, в каких регионах и в каких количествах на территории Российской Федерации применяются ФОП. То же самое относится и к поставщикам сырья из других стран.

Используемые в настоящей работе в качестве объектов анализа девять ФОП доступны на рынке пестицидов и имеют низкую стоимость, поэтому высока вероятность их широкого применения при выращивании лекарственного растительного сырья (ЛРС) и сельхозпродукции.

Известно, что даже при соблюдении сельскохозяйственных и производственных норм

обработки ФОП могут оставаться в обрабатываемых растениях, а также поступать в атмосферу, почву и водоемы [3–5]. Некоторые ФОП обладают высокой персистентностью, способны оставаться в неизменном состоянии и сохранять свою токсичность в течение длительного времени [6]. Кроме того, существует опасность попадания пестицидов в организм человека [7, 8]. Одним из источников токсичных ФОП может являться ЛРС, входящее в состав лекарственных препаратов и БАД [9, 10]. Известно, что растения способны кумулировать пестициды, поэтому возможность обнаружения и определения низких концентраций ФОП позволяет в течение длительного времени отслеживать “жизненный цикл” ФОП в растениях и вырабатывать дополнительные рекомендации по их безопасному применению.

В Государственной фармакопее (ГФ) РФ XV [11] нормируются 33 ФОП, при этом их пределы допустимого содержания коррелируют между собой в фармакопеях России, Европы [12] и США [13]. В настоящее время в ГФ РФ XV регламентированы методы определения только хлорорганических пестицидов, а действующие фармакопеи ЕР 10 и USP 42 NF-37 отошли от регламентирования унифицированных методик определения ФОП в ЛРС и предлагают использовать любой метод определения ФОП в ЛРС, удовлетворяющий критериям соответствующих общих фармакопейных статей (ОФС) и валидированный в соответствии с SANCO/10232/2006 [14] (для ЕР 11) или SANTE/11813/2017 [15] и OPPTS 860.1490 [16] (для USP 45 NF-40).

До недавнего времени при определении ФОП наиболее часто использовали метод газовой хроматографии (ГХ) в сочетании с пламенно-ионизационным, азотно-фосфорным или атомно-эмиссионным детектором с использованием внутренних стандартов (ВС) [17–20]. Поскольку ФОП – это полярные и слаболетучие соединения, их определение с помощью ГХ часто включает процедуру дериватизации. Для прямого определения полярных, слаболетучих соединений с низкой термической стабильностью предпочтительнее использование высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС). Кроме того, этот метод является одним из самых чувствительных и селективных, что позволяет определять низкие концентрации остаточных ФОП в ЛРС и пищевых продуктах.

Для повышения точности анализа развиваются направления с применением дейтерированных ВС [21, 22]. Такой подход позволяет учитывать возможные потери аналитов при подготовке проб и хроматографировании, так как потери дейтерированных аналогов полностью сопоставимы с потерями определяемых веществ. Применение при анализе дейтерированных ВС

нивелирует влияние матричного эффекта, являющегося валидационным параметром в фармакопеях Европы и США.

Описаны способы определения ФОП в лекарственных растениях методами газовой хромато-масс-спектрометрии [23, 24] и ВЭЖХ-МС [25, 26]. В большинстве из них для пробоподготовки используется метод твердофазной экстракции QuEChERS в различных вариациях. Масс-спектрометрия высокого разрешения с использованием дейтерированных ВС позволяет сократить процесс подготовки проб и избежать трудоемких манипуляций при подготовке ЛРС к анализу.

Перечень пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, представлен в государственном каталоге [27], где ограничено применение персистентных хлорорганических пестицидов. Перечень включает девять ФОП: диазинон, диметоат, ометоат, пиримифос-метил, пиримифос-этил, малатион, малаоксон, хлорпирифос-метил, фозалон, которые мы выбрали в качестве образцов для настоящего исследования (схема 1).

Цель данной работы – разработка и валидация методики одновременного определения девяти ФОП, позволяющей определять остаточные содержания ФОП в ЛРС и лекарственных препаратах растительного происхождения.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объекты исследования. Образцы ЛРС – корневища с корнями валерианы лекарственной (*Rhizomata cum radicibus Valerianae officinalis*), приобретенные в аптеке (АО “Красногорсклекарства”, Россия, серия 10123). Стандартные образцы диазинона (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 74332), диметоата (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 45449), ометоата (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 36181), пиримифос-метила (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 32058), пиримифос-этила (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 45628), малатиона (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 36143), малаоксона (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 36142), хлорпирифос-метила (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 45395), фозалона (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 36194). Предварительно мы синтезировали и охарактеризовали дейтерированные стандарты малатион-d6 и дихлорфос-d6 [28].

Растворы и реагенты. Реактивы: ацетонитрил HPLC-grade (CarloErba, Германия, Cat. № 7), деионизованная вода после очистки системой Milli-Q (Millipore, США), муравьиная кислота (Merck (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 1.00263).

Рабочие растворы готовили растворением точных навесок ФОП в ацетонитриле в день

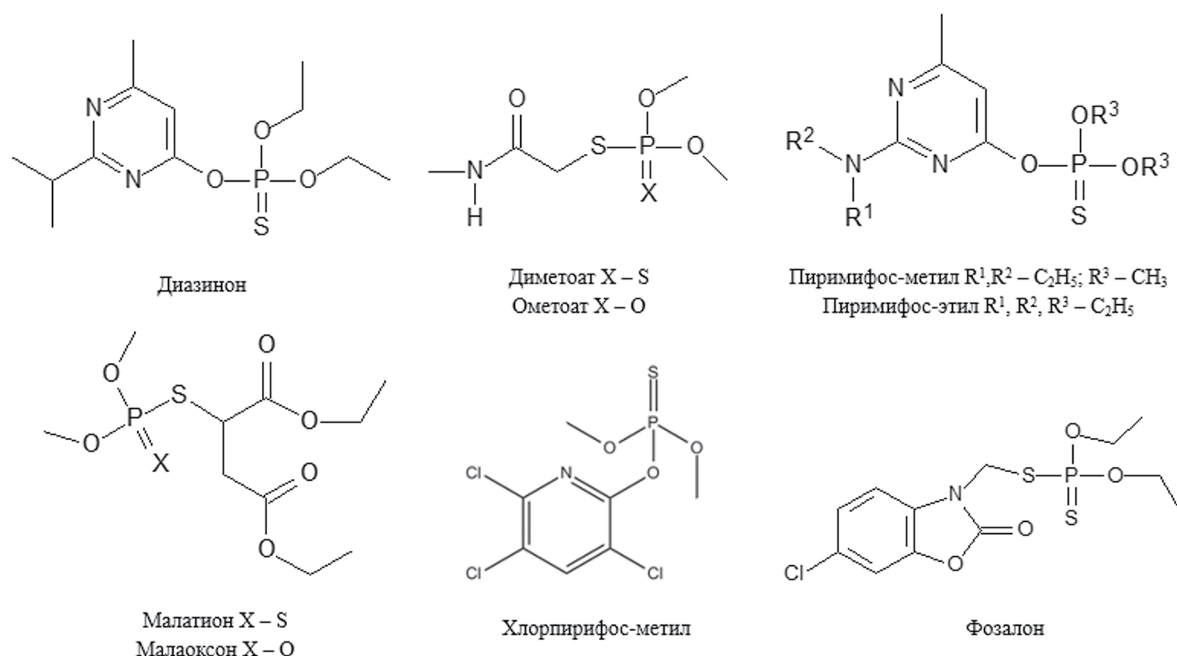


Схема 1. Структурные формулы фосфорорганических пестицидов.

проведения анализа в диапазоне концентраций от 0.05 до 10 000 нг/мл.

Испытуемые образцы корневищ с корнями валерианы с введенными ФОП готовили из рабочих растворов ФОП в диапазоне концентраций от 0.01 до 10 000 нг/г.

Оборудование. Использовали аналитическую станцию, состоящую из жидкостного хроматографа Dionex Ultimate 3000 RSLC (Thermo Scientific, США), оборудованного системой автоматического ввода пробы, с масс-селективным тандемным анализатором высокого разрешения Orbitrap Fusion Lumos (Thermo Scientific, США) с источником ионов и ионизацией электрораспылением. Для разделения аналитов использовали хроматографическую колонку Zorbax 300SB-C18 (Agilent Technologies, США). Экспериментальные данные регистрировали и обрабатывали с помощью программных пакетов Xcalibur (Thermo Scientific, США).

Методика определения фосфорорганических пестицидов в лекарственном растительном сырье. При разработке методики с целью повышения точности идентификации и определения содержания выбранных ФОП, а также для построения градуировочных зависимостей использовали предварительно синтезированные дейтерированные ВС малатион-d6 и дихлорфос-d6 [28].

Пробоподготовка. На аналитических весах взвешивали 1 г (точная навеска) измельченного в лабораторной мельнице растительного сырья, проходящего через сито 1 мм, добавляли 5 мл ацетонитрила, содержащего дейтерированные

ВС (500 нг/мл малатион-d6, 500 нг/мл дихлорфос-d6), перемешивали в течение 4 мин при 500 об/мин. Далее центрифугировали при 5500 об/мин в течение 5 мин, надосадочную жидкость пропускали через шприцевой фильтр для микрофильтрации ПТФЭ с размером пор 0.20 мкм. Органический экстракт переносили в стеклянную вialу емк. 2 мл.

Определяемые ФОП разделяли в режиме градиентного элюирования, скорость подвижной фазы 0.35 мл/мин, температура термостата колонки 40°C. Подвижная фаза А – 0.1 об. % НСООН в воде, подвижная фаза Б – ацетонитрил. Программа градиентного элюирования: 0–2 мин: 95% А; 2–10 мин: 5–95% Б; 10–11 мин: 95% Б; 11–15 мин: 95% А. Объем вводимой пробы составлял 0.01 мл.

Использовали электрораспылительную ионизацию в режиме регистрации положительно заряженных ионов аналитов (ФОП). Величина разрешения масс-анализатора составляла не менее 30 000 в режиме МС/МС.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оптимальные условия детектирования ФОП представлены в табл. 1. Температура входного ионного капилляра составляла 325°C, температура газа-осушителя – 350°C, скорость подачи обдувочного газа составляла 50 усл. ед. (согласно номенклатуре производителя), вспомогательного газа – 10 усл. ед. (согласно номенклатуре производителя) и продувочного газа – 1 усл. ед.

Таблица 1. Оптимальные условия одновременного детектирования фосфорорганических пестицидов с использованием электрораспылительной ионизации в режиме регистрации положительных ионов

Пестицид	Ионная реакция	Оптимальный режим фрагментации	Энергия фрагментации, В
Диазинон	305.1083 => 169.0794*	HCD	35
	305.1083 => 153.1022**	HCD	35
Диметоат	230.0069 => 198.9647*	HCD	10
	230.0069 => 170.9698**	HCD	20
Ометоат	214.0297 => 182.9875*	CID	40
	214.0297 => 196.0192**	HCD	15
Пиримифос-этил	334.1349 => 198.1059*	HCD	35
	334.1349 => 182.1288**	HCD	35
Пиримифос-метил	306.1036 => 278.0723*	CID	40
	306.1036 => 164.1182**	HCD	35
Малатион	331.0433 => 285.0015*	CID	25
	331.0433 => 127.0390**	HCD	15
Малаоксон	315.0662 => 127.0390*	HCD	15
	315.0662 => 269.0243**	CID	20
Хлорпирифос-метил	321.9023 => 289.8760*	CID	25
	321.9023 => 124.9821**	HCD	25
Фозалон	368.9941 => 322.0064*	CID	20
	368.9941 => 182.0003**	HCD	25
Малатион D6	337.081 => 291.0391*	CID	25
Дихлорфос D6	226.9908 => 133.0530**	HCD	30

*Ионная реакция для определения содержания, **ионная реакция для подтверждения присутствия.

(согласно номенклатуре производителя), в работе источника ионизации использовали азот в качестве газа-носителя. Напряжение на распыляющем капилляре составляло 3500 В. Масс-спектры фрагментации получали в варианте диссоциации, вызванной соударениями (CID) и высокоэнергетической диссоциации (HCD). При выборе ионных реакций выбирали две наиболее интенсивные, полученные для этих вариантов диссоциации.

В процессе разработки методики выбирали и оптимизировали условия масс-спектрометрического детектирования в режиме сканирования фрагментных ионов, образующихся в результате фрагментации ионов-предшественников аналитов.

Выбор условий масс-спектрометрического детектирования. Исследуемые ФОП (схема 1) имеют в своей структуре полярные и основные группы, а также донорно-акцепторные центры. За счет наличия в структуре атомов азота, кислорода и серы молекулы ФОП легко протонируются, образуя положительно заряженные ионы в слабокислой среде, поэтому в ходе выбора условий масс-спектрометрического детектирования использовали электрораспылительную

ионизацию в режиме регистрации положительно заряженных ионов. В результате анализа масс-спектров выбрали ионные реакции, приводящие к наиболее интенсивным и устойчивым фрагментным ионам. Условия одновременного детектирования ФОП оптимизировали в режиме прямого ввода раствора стандарта исследуемых ФОП (раствор с содержанием каждого пестицида 1 мкг/мл в воде) непосредственно в источник ионов.

Для исследования параметров, отвечающих за настройки работы масс-детектора, напряжения на входной линзе при настройке ионной оптики “нулевого” квадруполя и энергии фрагментации в ячейке соударений, использовали типичные параметры работы масс-спектрометрического детектора, рекомендуемые производителем и прописанные в файле автоматической настройки системы – автотюнинга. Напряжение на входной линзе варьировали в диапазоне 10–90 В. Для каждого ФОП использовали два типа энергии фрагментации – CID и HCD. Оптимальное напряжение на входной линзе для каждого ФОП представлено в табл. 1. Условия масс-спектрометрического детектирования выбранных ФОП приведены в табл. 2.

Таблица 2. Условия масс-спектрометрического детектирования выбранных фосфорорганических пестицидов и их дейтерированных аналогов

Параметр	Оптимизированное значение
Температура газа-осушителя, °C	350
Температура входного ионного капилляра, °C	325
Скорость подачи газа-осушителя, усл. ед.	50
Скорость подачи газа-распылителя через иглу небулайзера, усл. ед.	10
Напряжение источника ионизации, В	3 500
Напряжение на линзе	Для каждого соединения устанавливается отдельно
Энергия фрагментации	Для каждого соединения устанавливается отдельно
Ион – предшественник	Для каждого соединения устанавливается отдельно
Диапазон сканирования, m/z	80–350
Время сканирования, мс	22 для каждой ионной реакции
Разрешение масс-спектрометра	30 000
Полярность регистрируемых ионов	Положительные

На следующем этапе для ионных MRM-переходов определяемых ФОП выбирали пики ионов, имеющие наибольшую интенсивность в масс-спектрах фрагментации протонированных

молекул аналитов. В качестве ионов-прекурсоров выбрали протонированные молекулярные ионы. В табл. 3 приведены наиболее интенсивные пики, полученные в режиме сканирования.

Таблица 3. Наблюдаемая фрагментация протонированных молекулярных ионов фосфорорганических пестицидов и их молекулярные формулы (фрагментация в режимах CID = 25, HCD = 25)

Элементный состав	$m/z_{\text{теор}}$	$m/z_{\text{набл}}$	$\Delta m/z$, млн ⁻¹	Интенсивность, %
Диазинон CID				
C8H13N2S	169.0794	169.0792	–0.22	75.29
C8H13ON2	153.1022	153.1021	–0.17	36.93
C10H18O3N2PS	277.077	277.0772	0.21	2.7
Диазинон HCD				
C8H13N2S	169.0794	169.0793	–0.1	100
C8H13ON2	153.1022	153.1021	–0.1	50.35
H4O3PS	114.9613	114.9613	–0.04	6.54
Диметоат CID				
C4H8O3PS2	198.9647	198.9648	0.05	100
C3H8O2PS2	170.9698	170.9699	0.13	1.92
C4H9O2NPS2	197.9807	197.9815	0.79	1.26
Диметоат HCD				
C2H8O3PS	142.9926	142.9924	–0.21	100
C3H8O2PS2	170.9698	170.9696	–0.16	83.08
C4H8O3PS2	198.9647	198.9646	–0.08	35.51

Таблица 3. Продолжение

Элементный состав	$m/z_{\text{теор}}$	$m/z_{\text{набл}}$	$\Delta m/z$, млн ⁻¹	Интенсивность, %
Ометоат CID				
C4H8O4PS	182.9875	182.9873	-0.25	100
C5H11O3NPS	196.0192	196.019	-0.18	18.74
C2H8O3PS	142.9926	142.9925	-0.15	3.51
Ометоат HCD				
C2H8O3PS	142.9926	142.9924	-0.2	100
C4H8O4PS	182.9875	182.9874	-0.1	39.53
C3H8O3PS	154.9926	154.9924	-0.18	33.32
Пиримифос-этил CID				
C11H21O3N3PS	306.1036	306.1041	0.52	45.36
C9H16N3S	198.1059	198.1059	0	71.4
C9H16ON3	182.1288	182.1288	0	17.83
Пиримифос-этил HCD				
C9H16N3S	198.1059	198.1059	-0.03	100.00
C9H16ON3	182.1288	182.1288	0.03	28.27
C11H21O3N3PS	306.1036	306.1042	0.61	18.32
Пиримифос-метил CID				
C9H17O3N3PS	278.0723	278.0726	0.36	9.46
C9H14N3	164.1182	164.1182	-0.03	7.53
C10H17O2N3PS	274.0774	274.0778	0.4	5.06
Пиримифос-метил HCD				
C9H14N3	164.1182	164.1181	-0.09	17.55
C9H17O3N3PS	278.0723	278.0727	0.42	5.06
C10H17O2N3PS	274.0774	274.0778	0.46	2.22
Малатион CID				
C8H14O5PS2	285.0015	285.0019	0.41	100
C6H7O3	127.039	127.0388	-0.12	14.07
C4H3O3	99.0077	99.0076	-0.12	3.73
Малатион HCD				
C4H3O3	99.0077	99.0076	-0.11	100
C6H7O3	127.039	127.0388	-0.13	78.88
C2H8O3PS	142.9926	142.9925	-0.1	25.42
Малаоксон CID				
C6H7O3	127.039	127.0388	-0.16	100
C8H14O6PS	269.0243	269.0246	0.31	63.77
C4H3O3	99.0077	99.0076	-0.09	58.99
Малаоксон HCD				
C4H3O3	99.0077	99.0076	-0.11	100
C6H7O3	127.039	127.0388	-0.13	72.99
C2H8O3PS	142.9926	142.9925	-0.09	18.5
Хлорпирифос-метил CID				
C6H4O2NCI3PS	289.876	289.8765	0.45	100

Таблица 3. Продолжение

Элементный состав	$m/z_{\text{теор}}$	$m/z_{\text{набл}}$	$\Delta m/z$, млн^{-1}	Интенсивность, %
C2H8O3PS	142.9926	142.9925	–0.12	3.67
C2 H6 O2PS	124.9821	124.9819	–0.14	1.12
Хлорпирифос-метил HCD				
C2H8O3PS	142.9926	142.9925	–0.14	100
C6H4O2NCI3PS	289.876	289.8765	0.45	48.23
C2H6O2PS	124.9821	124.9819	–0.13	9.76
Фозалон CID				
C11H14O4NCIPS	322.0064	322.0068	0.42	100
C8H5O2NCI	182.0003	182.0003	–0.04	35.91
C10H10O3NCIPS2	321.9523	321.9524	0.12	8.07
Фозалон HCD				
C8H5O2NCI	182.0003	182.0003	–0.03	100
H4O3PS	114.9613	114.9613	–0.06	11.6
C10H15O3NCIPS2	326.9914	327.0783	86.91	4.21
Малатион-d6 CID				
C8H8[2]H6O5PS2	291.0391	291.0393	0.17	100
C6H7O3	127.039	127.0389	–0.08	11.16
C4H3O3	99.0077	99.0076	–0.06	3.08
Малатион-d6 HCD				
C4H3O3	99.0077	99.0075	–0.13	100
C6H7O3	127.039	127.0388	–0.17	82.03
C5H2[2]H6O3PS2	217.0024	217.0023	–0.04	19.32
Дихлорфос-d6 CID				
C2H2[2]H6O4P	133.0531	133.0529	–0.2	79.23
C2H[2]H6O3ClP	151.0192	151.0191	–0.19	39.14
C3[2]H6O2Cl	115.0427	115.0429	0.15	0.16
Дихлорфос-d6 HCD				
C2H2[2]H6O4P	133.0531	133.0529	–0.23	100
C2H[2]H6O3ClP	151.0192	151.0191	–0.14	7.07
C3[2]H6O2Cl	115.0427	115.0428	0.1	0.07

Для ометоата, малаоксона, хлорпирифос-метила, малатиона, пиримифос-метила и фозалона оптимальный режим фрагментации для двух ионных реакций не совпадает. Так, на рис. 1 в качестве примера представлены масс-спектры фрагментаций молекулярных ионов ометоата, полученные в режиме высокого разрешения в вариантах CID и HCD. Фрагмент для определения содержания 182.9875 характеризуется более высокой интенсивностью в режиме CID, а фрагмент для подтверждения присутствия 196.0192, наоборот, лучше проявляется в режиме

HCD-фрагментации. На основании полученных данных для каждого ФОП выбрали по две наиболее интенсивные ионные реакции. В табл. 1 представлены выбранные наиболее интенсивные реакции для каждого ФОП и ВС (дейтерированных аналогов).

Выбор условий хроматографического разделения. Установили, что в качестве неподвижной фазы при определении ФОП в ЛРС оптимально использование колонки Agilent Zorbax 300SB-C18, 100 мм × 2.1 мм с диаметром зерна сорбента 3.5 мкм.

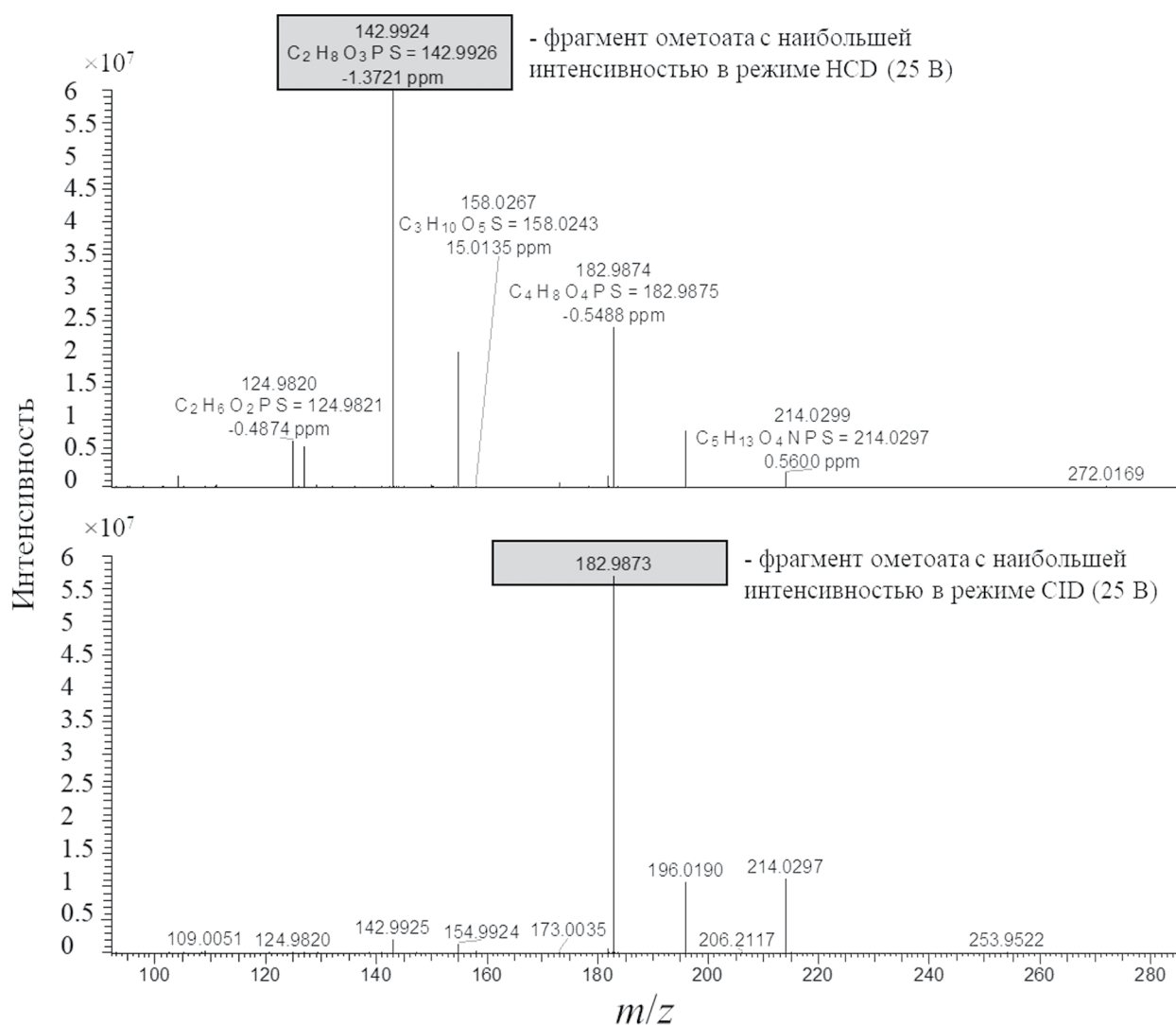


Рис. 1. Масс-спектры фрагментаций протонированного молекулярного иона ометоата с m/z 214.0297, полученные в вариантах CID (25 В) и HCD (25 В). Режим регистрации положительных заряженных ионов.

Для разделения ФОП использовали подвижную фазу, состоящую из ацетонитрила и 0.1%-ного раствора водной муравьиной кислоты. Использование муравьиной кислоты способствует наименьшему размыванию пиков ФОП. В табл. 4 представлены условия и параметры хроматографического разделения ФОП. Расчетная величина мертвого времени составляет 0.7 мин. В табл. 5 приведены параметры хроматографического разделения ФОП в выбранных условиях.

В качестве критерия присутствия ФОП в пробах использовали относительное время удерживания и представленные в табл. 1 ионные реакции (совпадение двух выбранных ионов из масс-спектров фрагментации протонированных молекул аналитов, соответствующих определяемому компоненту).

Оптимизация процедуры подготовки проб. Распространенным способом подготовки

образцов при определении ФОП является система QuEChERS, разработанная в 2003 г. для анализа пищевых продуктов [29]. Для достижения удовлетворительных результатов определения ФОП проанализировали различные условия экстракции (тип растворителя для экстракции и тип очистки). Использование системы QuEChERS показало неудовлетворительные результаты, что, вероятно, связано с большими потерями образца в ходе процедуры пробоподготовки.

В качестве оптимального метода пробоподготовки выбрали экстракцию ацетонитрилом без использования твердофазной очистки экстракта. За основу взяли методику, предложенную Абатэ и др. [30], для определения афлатоксинов, красителей и пестицидов в специях.

На рис. 2 в качестве примера приведены хроматограммы малатиона в пробах корневищ с корнями валерианы в выбранных условиях

Таблица 4. Условия хроматографического разделения

Параметр	Значение
Объем вводимой пробы, мл	0.010
Элюент А	0.1%-ная муравьиная кислота в воде
Элюент Б	Ацетонитрил
Температура термостата колонки, °С	40
Скорость подачи элюента, мл/мин	0.350
Программа элюирования, состав подвижной фазы	0.00–2.00 мин 5% элюента Б; 2.01–10.00 мин 5–95% элюента Б; 10.01–11.00 мин 95% элюента Б; 11.01–15.00 мин 5% элюента Б (градиентный режим)

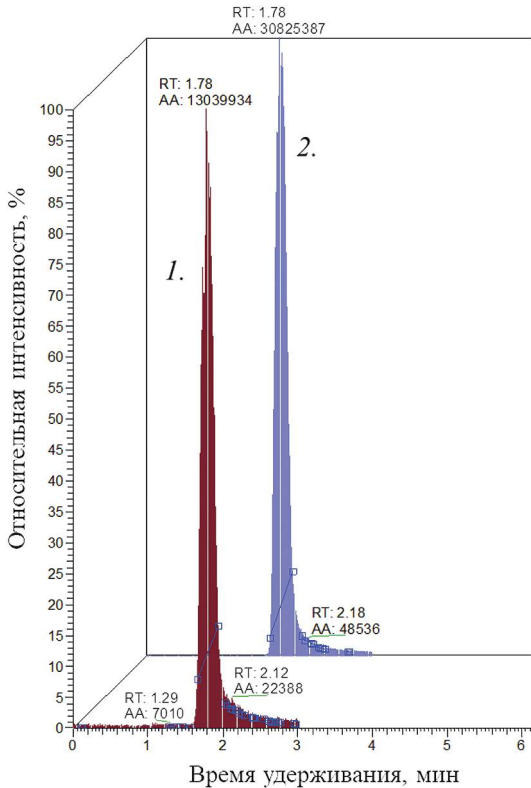


Рис. 2. Суперпозиция хроматограмм стандартного раствора, содержащего 100 нг/мл малатиона, по двум ионным реакциям. 1 – ионная реакция для определения содержания 214.0297 => 182.9875; 2 – ионная реакция для подтверждения присутствия 214.0297 => 196.0192.

разделения и подготовки проб. На хроматограммах представлена величина аналитического сигнала иона из масс-спектров фрагментации протонированных молекул аналитов, выбранного для количественного анализа.

Валидацию методики определения ФОП в ЛРС методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения проводили

на основе ОФС 1.1.0012 “Валидация аналитических методик” и ОФС 1.5.3.0011 “Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах” Государственной фармакопеи РФ XV издания [11] по следующим параметрам: специфичность, линейность, правильность и аналитическая область, предел

Таблица 5. Параметры хроматографического разделения фосфорорганических пестицидов

Пестицид	Время удерживания, мин	Коэффициент емкости	Число теоретических тарелок
Диазинон	9.0 ± 0.2	11.9	268 366
Диметоат	5.5 ± 0.2	6.9	50 232
Ометоат	1.8 ± 0.2	1.6	6355
Пиримифос-этил	9.7 ± 0.2	12.9	310 628
Пиримифос-метил	9.0 ± 0.2	11.9	336 017
Малатион	8.5 ± 0.2	11.1	156 127
Малаоксон	6.9 ± 0.2	8.8	208 024
Хлорпирифос-метил	9.3 ± 0.2	12.2	118 868
Фозалон	9.3 ± 0.2	12.2	205 796

количественного определения, прецизионность.

Согласно требованиям к валидации аналитических методик SANCO, оценивали влияние матричного эффекта, хотя это не входит в обязательные критерии валидации.

Специфичность. Для подтверждения специфичности использовали пробы корневищ с корнями валерианы, не содержащие ФОП, и сравнивали с модельными пробами данного ЛРС, в которые в ходе пробоподготовки добавляли рабочий стандартный раствор ФОП в ацетонитриле. На полученных хроматограммах отсутствовали пики компонентов, мешающих определению ФОП. Время удерживания основного пика на хроматограммах испытуемых растворов совпало с временем удерживания основного пика на хроматограммах для каждого ФОП. Время удерживания для каждого пестицида, коэффициент емкости и эффективность разделения приведены в табл. 5.

Линейность. Для каждого определяемого пестицида готовили серию градуировочных растворов в диапазоне концентраций 0.01 до 10 000 нг/г. В качестве ВС использовали добавку 500 нг/мл малатион-d6 и 500 нг/мл дихлорфос-d6. Для хлорсодержащего пестицида хлорпирифоса площадь пика нормировали с пересчетом на дихлорфос-d6, в остальных случаях с пересчетом на малатион-d6. Для построения градуировочных зависимостей использовали отношения площадей пиков выбранной ионной реакции для определения ФОП к площадям пиков дейтерированных аналогов. По полученным значениям строили градуировочные графики. Установили, что графики зависимостей отношений площади пика каждого ФОП к площади

пика ВС от его содержания линейны и описываются уравнением $y = ax$. Полученные результаты приведены в табл. 6 и удовлетворяют критериям приемлемости по показателю “линейность”.

Предел количественного определения. В соответствии с полученными данными валидируемая методика обеспечивает следующие значения пределов количественного определения, нг/г: 0.01 для диазинона, 0.1 для диметоата, 0.1 для ометоата, 0.01 для пиримифос-этила, 0.01 для пиримифос-метила, 0.1 для малатиона, 0.01 для малаоксона, 10 для фозалона. Для этих значений отношение сигнал/шум для каждого компонента превышает 10 : 1. Данные значения предела количественного определения позволяют определять ФОП в ЛРС в количествах, соответствующих пределам допустимого содержания, обозначенных в ОФС 1.5.3.0011.15.

Правильность разработанного подхода проверяли методом введено–найдено. Для этого готовили серии проб корневищ с корнями валерианы с внесенными ФОП с концентрациями каждого аналита (нг/г) 0.04, 0.4, 4, 40, 400, 4000. Степень извлечения каждого пестицида лежала в диапазоне 70–110% (табл. 7).

Прецизионность. Повторяемость методики характеризует ее прецизионность при выполнении повторных испытаний в пределах короткого промежутка времени в условиях сходимости на одном и том же оборудовании. Определение проводили на шести испытуемых растворах корневищ с корнями валерианы лекарственной. Каждый раствор хроматографировали три раза.

Прецизионность оценивали методом введено–найдено на примере трех концентраций с тремя повторами для каждой и выражали в виде стандартного отклонения, относительного

Таблица 6. Метрологические характеристики определения фосфорорганических пестицидов в модельных пробах корневищ с корнями валерианы

Пестицид	Уравнение градуировочной зависимости	Диапазон линейности градуировочного графика, нг/г	R^2
Диазинон	$S_i = 9.04 \times 10^{-2} c_i$	0.01–10	0.996
Диметоат	$S_i = 0.22 c_i$	0.1–100	0.997
Ометоат	$S_i = 0.186 c_i$	0.1–100	0.998
Пиримифос-этил	$S_i = 0.322 c_i$	0.01–10	0.995
Пиримифос-метил	$S_i = 6.51 \times 10^{-2} c_i$	0.01–10	0.993
Малатион	$S_i = 3.46 \times 10^{-3} c_i$	0.1–100	0.997
Малаоксон	$S_i = 3.32 \times 10^{-2} c_i$	0.01–10	0.994
Хлорпирифос-метил	$S_i = 1.11 \times 10^{-4} c_i$	1–500	0.997
Фозалон	$S_i = 1.71 \times 10^{-4} c_i$	10–5000	0.996

Примечание: $S_i = S_{\text{опр}}/S_{\text{вн.ст.}}$ – отношение площадей пика выбранной ионной реакции для количественной оценки определяемого аналита к площади пика соответствующего дейтерированного ВС; c_i – концентрация определяемого компонента в пробе, нг/г.

Таблица 7. Правильность и прецизионность определения фосфорорганических пестицидов в модельных пробах корневищ с корнями валерианы

Пестицид	Введено, нг/г	Найдено, нг/г	s_r , %	s , нг/г	Степень извлечения, %
Диазинон	0.04	0.037	4.02	0.0015	91.7
	0.4	0.42	2.53	0.0107	106.0
	4	4.09	2.41	0.0987	102.3
Диметоат	0.4	0.39	8.28	0.032	97.4
	4	3.69	6.07	0.22	92.2
	40	42.3	6.67	2.82	105.8
Ометоат	0.4	0.41	4.45	0.018	102.8
	4	3.74	2.04	0.076	93.6
	40	41.3	6.33	2.61	103.3
Пиримифос-этил	0.04	0.036	6.55	0.0024	90.4
	0.4	0.42	2.17	0.0092	106.3
	4	4.16	4.4	0.18	104.1
Пиримифос-метил	0.04	0.039	3.1	0.0012	96.8
	0.4	0.42	2.98	0.012	103.9
	4	3.70	2.91	0.11	92.5
Малатион	0.4	0.42	7.12	0.030	105.2
	4	4.23	3.36	0.14	105.9
	40	40.5	20.1	8.1	101.2
Малаоксон	0.04	0.038	6.11	0.0023	93.9
	0.4	0.37	7.01	0.026	93.0
	4	4.16	3.2	0.13	104.0
Хлорпирифос-метил	4	3.78	1.1	0.043	94.3
	40	36.2	4.5	1.64	90.5
	400	387.7	10.6	41.1	96.9
Фозалон	40	34.5	8.07	2.78	86.2
	400	378.8	2.29	8.67	94.7
	4000	4133.2	9.2	380.4	103.3

стандартного отклонения и относительной погрешности. Результаты представлены в табл. 7 и удовлетворяют валидационному критерию “прецизионность”.

Матричный эффект. Для каждого пестицида определяли матричный эффект (МЭ), сравнивая наклон градуировочных кривых в матрице (корневища с корнями валерианы) и ацетонитриле, используя формулу, приведенную в работах [21, 31]:

$$\text{МЭ, \%} = \left(\frac{\text{Наклон градуировочного графика в матрице}}{\text{Наклон градуировочного графика в ацетонитриле}} - 1 \right) \times 100.$$

Для большинства пестицидов МЭ оказался отрицательным со значениями ниже 20%, т.е.

происходит подавление интенсивности аналитического сигнала на хроматограммах. Это может быть связано с присутствием в корневищах с корнями валерианы эфирных масел и других вторичных метаболитов, конкурирующих с аналитами при хроматографическом разделении либо изменяющих свойства элюента, которые влияют на процесс дальнейшей ионизации. Так, МЭ для диазинона составил –13.7%, для диметоата –14.6%, для ометоата –7.6%, для пиримифос-метила –10.3%, для пиримифос-этила –17.0%, для малатиона –2%, для малаоксона –0.4%, для фозалона –10.7%. Хлорпирифос-метил показал при анализе увеличение хроматографического сигнала и соответственно положительный МЭ – +13.4%. Учет МЭ свидетельствует о приемлемости методики для анализа ЛРС.

Разработана и валидирована методика одновременного определения девяти ФОП, допустимых к применению на территории РФ, в ЛРС методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения. Методика валидирована по следующим валидационным параметрам: специфичность, линейность, правильность и аналитическая область, предел определения, прецизионность, матричный эффект. Показано, что результаты валидации удовлетворительны по всем указанным критериям. Предложенный подход может быть успешно использован для идентификации и определения ФОП в ЛРС в широком диапазоне концентраций от 0.01 до 10 000 нг/г. Наряду с фармацевтическими компаниями, которые занимаются переработкой ЛРС и производством лекарственных растительных препаратов, предлагаемая методика может использоваться для анализа содержания ФОП в сырье производителями сельхозпродукции.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет). Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. McKelvey W., Jacobson J.B., Kass, D., Barr D.B., Davis M., Calafat A.M., Aldous K.M. Population-based biomonitoring of exposure to organophosphate and pyrethroid pesticides in New York city // *Environ. Health Perspect.* 2013. V. 121. № 11–12. P. 1349. <https://doi.org/10.1289/ehp.1206015>
2. Atwood D., Paisley-Jones C. Pesticides Industry Sales and Usage 2008-2012 Market Estimates. Washington, DC: U. S. Environmental Protection Agency. https://www.epa.gov/sites/default/files/2017-01/documents/pesticides-industry-sales-usage-2016_0.pdf (дата обращения 09.12.2023).
3. Schummer C., Mothiron E., Appenzeller B.M. R., Rizet A., Wennig R., Millet M. Temporal variations of concentrations of currently used pesticides in the atmosphere of Strasbourg, France // *Environ. Pollut.* 2010. V. 158. № 2. P. 576. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.08.019>
4. Rajput S., Kumari A., Arora S., Kaur R. Multi-residue pesticides analysis in water samples using reverse phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) // *Methods X.* 2018. V. 5. P. 744. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2018.07.005>
5. Mwevura H., Kylin H., Vogt T., Bouwman H. Dynamics of organochlorine and organophosphate pesticide residues in soil, water, and sediment from the Rufiji River Delta, Tanzania // *Reg. Stud. Mar. Sci.* 2021. V. 41. Article 101607. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2020.101607>
6. Noore S., Ramesh G., Vendan S.E., Nagaraju V.D. Persistence and diffusion behaviour of chlorpyrifos in five different species of vegetables: A comparative analysis // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2021. V. 217. Article 112208. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112208>
7. Romero-González R., Aguilera-Luiz M.M., Plaza-Bolaños P., Frenich A.G., Vidal J.M. Food contaminant analysis at high resolution mass spectrometry: Application for the determination of veterinary drugs in milk // *J Chromatogr A.* 2011. V. 1218. № 52. P. 9353. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.10.074>
8. Naksen W., Prapamontol T., Mangklabruks A., Chantara S., Thavornnyutikarn P., Robson M.G., et al. A single method for detecting 11 organophosphate pesticides in human plasma and breastmilk using GC-FPD // *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2016. V. 1025. P. 92. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.04.045>
9. Luo L., Dong L., Huang Q., Ma S., Fantke P., Li J., et al. Detection and risk assessments of multi-pesticides in 1771 cultivated herbal medicines by LC/MS-MS and GC/MS-MS // *Chemosphere.* 2021. V. 262. Article 127477. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127477>
10. Tripathy V., Basak B.B., Varghese T.S., Saha A. Residues and contaminants in medicinal herbs — A review // *Phytochem Lett.* 2015. V. 14. P. 67. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2015.09.003>
11. Государственная фармакопея Российской Федерации. 15-е изд. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2023. <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (дата обращения 09.12.2023).
12. European Pharmacopoeia 11th Ed. EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare). <https://pheur.edqm.eu/> (дата обращения 09.12.2023).
13. United States Pharmacopeia 45. National Formulary 40. Second Supplement. United States Pharmacopeial Convention. <http://www.uspnf.com/> (дата обращения 09.12.2023).
14. European Commission SANC O. Quality control procedures for pesticide residues analysis. Document

- SANCO/10232/2006. 24 March. https://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance_Sanco_2006_10232.pdf/ (дата обращения 09.12.2023).
15. European Commission. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. Document SANTE/11813/2017. 21-22 November. https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/SANTE_11813_2017-fin.pdf/ (дата обращения 09.12.2023).
 16. EPA, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances (OPPTS) Residue Chemistry Test Guideline OPPTS 860.1340. Residue Analytical Methods, 1996. <https://www.regulations.gov/document/EPA-HQ-OPPT-2009-0155-0007/> (дата обращения 09.12.2023).
 17. WHO Guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues. Geneva: World Health Organization, 2007. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43510/> (дата обращения 09.12.2023).
 18. The Unani Pharmacopoeia of India. 1st Ed. Part 2. V. 3. Pharmacopoeia Commission for Indian Medicine & Homoeopathy Ministry of AYUS H. Government of India. https://pcimh.gov.in/show_content.php?lang=1&level=1&ls_id=58&lid=56 (дата обращения 09.12.2023).
 19. Фармакопея Евразийского экономического союза. Москва: Евразийская экономическая комиссия, 2020. <https://docs.eaeunion.org/> (дата обращения 09.12.2023).
 20. United States Pharmacopeia 38. National Formulary 33. First Supplement. United States Pharmacopeial Convention. <http://www.uspnf.com/> (дата обращения 09.12.2023).
 21. Reichert B., Pizzutti I.R., Costabeber I.H., Uclés A., Herrera S., Fernández-Alba A.R. Validation and application of micro flow liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the determination of pesticide residues in fruit jams // *Talanta*. 2015. V. 134. P. 415. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.11.047>
 22. Liu X.Q., Li Y.F., Meng W.T., Li D.X., Sun H., Tong L., Sun G.X. A multi-residue method for simultaneous determination of 74 pesticides in Chinese material medica using modified QuEChERS sample preparation procedure and gas chromatography tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2016. V. 1015-1016. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.01.029>
 23. Taha S.M., Gadalla S.A. Development of an efficient method for multi residue analysis of 160 pesticides in herbal plant by ethyl acetate hexane mixture with direct injection to GC-MS/MS // *Talanta*. 2017. V. 174. P. 767. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.06.080>
 24. Hu Y., Wan L., Zhang J., Yang F., Cao J. Rapid determination of pesticide residues in Chinese materia medica using QuEChERS sample preparation followed by gas chromatography–mass spectrometry // *Acta Pharm. Sin. B*. 2012. V. 2. № 3. P. 286. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2012.03.005>
 25. Lozano A., Rajski L., Belmonte-Valles N., Uclés A., Uclés S., Mezcuca M., Fernández-Alba A.R. Pesticide analysis in teas and chamomile by liquid chromatography and gas chromatography tandem mass spectrometry using a modified QuEChERS method: Validation and pilot survey in real samples // *J. Chromatogr. A*. 2012. V. 1268. P. 109. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.10.013>
 26. Chen L., Song F., Liu Z., Zheng Z., Xing J., Liu S. Multi-residue method for fast determination of pesticide residues in plants used in traditional chinese medicine by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A*. 2012. V. 1225. P. 132. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.12.071>
 27. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации от 3 октября 2023 года. <https://mcx.gov.ru/ministry/departments/departament-rasteniievodstva-mekhanizatsii-khimizatsii-i-zashchity-rasteniy/industry-information/info-gosudarstvennaya-usluga-po-gosudarstvennoy-registratsii-pestitsidov-i-agrokhimikatov/> (дата обращения 09.12.2023).
 28. Крылов В.И., Яшир В.А., Браун А.В., Крылов И.И., Фатеенкова О.В., Савватеев А.М. Разработка методов синтеза малатиона-Д6, хлорофоса-Д6 и дихлофоса-Д6 для использования в качестве внутренних стандартов при анализе лекарственного растительного сырья и фито-препаратов // *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023. V. 13. № 3. P. 411. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-517>
 29. Anastassiades M., Lehota S.J., Štajnbaher D., Schenck F.J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce // *J. AOAC Int.* 2003. V. 86. № 2. P. 412. <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>
 30. Ferrer Amate C., Unterluggauer H., Fischer R.J., Fernández-Alba A.R., Masselter S. Development and validation of a LC-MS/MS method for the simultaneous determination of aflatoxins, dyes and pesticides in spices // *Anal. Bioanal. Chem.* 2010. V. 397. № 1. P. 93. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3526-x>
 31. Chawla S., Patel H.K., Gor H.N., Vaghela K.M., Solanki P.P., Shah P.G. Evaluation of matrix effects in multiresidue analysis of pesticide residues in vegetables and spices by LC-MS/MS // *J. AOAC Int.* 2017. V. 100. № 3. P. 616. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0048>

DETERMINATION OF NINE ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES BY HIGH-RESOLUTION HPLC-MS/MS IN MEDICINAL PLANT MATERIALS

O. V. Fateenkova^{a,*}, A. M. Savvateev^{a,**}, A. V. Braun^b, V. L. Beloborodov^a, I. V. Gravel^a

^a *I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation, 119991 Moscow, Russia*

^b *Laboratory for the Chemical and Analytical Control of the Military Research Centre, 105005 Moscow, Russia*

*E-mail: Fateenkova-Olga@mail.ru

**E-mail: Savvateev_A_M@staff.sechenov.ru

Abstract. A method for the simultaneous determination of organophosphorus pesticides (OPPs)—diazinon, dimethoate, omethoate, pirimiphos-methyl, pirimiphos-ethyl, malathion, malaoxon, chlorpyrifos-methyl, and phosalone—in medicinal plant materials using high-resolution liquid chromatography-mass spectrometry has been developed. The method involves a rapid sample preparation procedure, where ground plant material is extracted with acetonitrile. Analytical conditions were optimized using reverse-phase chromatography. The determination is carried out using the internal standard method with deuterated standards of malathion-d6 and dichlorvos-d6, based on two of the most intense, specific ion reactions for each individual OPP. The method was tested on plant materials, specifically the rhizomes with roots of valerian (*Rhizomata cum radicibus Valerianae officinalis*), and validated for specificity, linearity, accuracy, analytical range, limit of quantification, precision, and matrix effect. This method can be used to determine the mentioned OPPs in a wide concentration range, from 0.01 to 10,000 ng/g of raw material, in both medicinal and agricultural plant cultivation.

Keywords: organophosphorus pesticides, medicinal plant materials, high-resolution mass spectrometry, high-performance liquid chromatography, validation.

УДК 543.253:541.128.13

ПРОТОЧНО-ИНЖЕКЦИОННОЕ АМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦЕФТРИАКСОНА, ЦЕФОТАКСИМА И ЦЕФОПЕРАЗОНА НА ЭЛЕКТРОДЕ, МОДИФИЦИРОВАННОМ БИНАРНОЙ СИСТЕМОЙ ИЗ ЧАСТИЦ ЗОЛОТА И СМЕШАННОВАЛЕНТНЫХ ОКСИДОВ РУТЕНИЯ

© 2024 г. Л. Г. Шайдарова^{а, *}, И. А. Челнокова^а, М. А. Ильина^а, Г. К. Будников^а

^аКазанский федеральный университет, Химический институт им. А.М. Бутлерова,
ул. Кремлевская, 18, 420008 Казань, Россия

*E-mail: LarisaShaidarova@mail.ru

Поступила в редакцию 30.11.2023 г.

После доработки 13.12.2023 г.

Принята к публикации 15.12.2023 г.

Разработаны модифицированные электроды на основе частиц золота и смешанновалентных оксидов рутения, а также бинарной системы на их основе для вольтамперометрического определения цефтриаксона, цефотаксима и цефоперазона. Электрод с бинарной системой из частиц золота и смешанновалентных оксидов рутения, обладающий наилучшими характеристиками, использовали для детектирования цефалоспоринов в условиях проточно-инжекционного анализа. Выбраны оптимальные условия детектирования цефалоспоринов в проточно-инжекционной системе. Зависимость аналитического сигнала от концентрации рассматриваемых соединений в логарифмических координатах линейна в интервале от 5×10^{-7} до 5×10^{-3} М. Предложенный способ определения цефалоспоринов апробирован при анализе лекарственных средств.

Ключевые слова: химически модифицированные электроды, электроокисление, цефалоспорины, проточно-инжекционный анализ.

DOI: 10.31857/S0044450224080113, EDN: tjcgvj

В настоящее время антибиотики цефалоспоринового ряда, к которым относят цефтриаксон, цефотаксим и цефоперазон, занимают ведущее место при лечении различных инфекций [1]. Широкое использование этих препаратов обусловлено их характерными особенностями: быстрым бактерицидным действием, достаточно высокими фармакокинетическими характеристиками, низкой токсичностью и хорошей переносимостью, сочетаемостью с другими антибактериальными средствами [2]. Экспрессное и точное определение цефалоспоринов необходимо для выявления фальсифицированных лекарственных средств, а также для регулирования оптимальных доз препаратов при лечении инфекционных заболеваний.

Описаны спектральные [3–5], титриметрические [6] и хроматографические [7–11] способы определения цефалоспоринов. Их ограничения, такие как недостаточная чувствительность,

токсичность реагентов, сложность пробоподготовки, длительность проведения анализа и высокая стоимость используемого оборудования, диктуют необходимость создания новых методов с высокой чувствительностью определения цефалоспоринов.

В рамках фармацевтического анализа, как известно, для определения различных органических соединений широко используются электрохимические сенсоры, обладающие стабильным и чувствительным откликом [12, 13]. При их создании рабочую поверхность электрода (обычно из углеродного материала) модифицируют с целью улучшения аналитических и метрологических характеристик отклика. Модификация поверхности электрода способствует уменьшению перенапряжения окисления органических соединений, наблюдаемого на углеродных электродах, а также снижению нижней границы определяемых содержаний [14]. В итоге

применение химически модифицированных электродов (ХМЭ) приводит к повышению чувствительности и селективности вольтамперометрического отклика на органические соединения, в том числе цефалоспорины [15–17]. Не менее важно и то, что ХМЭ могут “работать” как амперометрические детекторы в проточных системах, что позволяет проводить большое количество измерений с высокими чувствительностью и селективностью в автоматизированном режиме быстро и с низкими затратами [18, 19]. С целью автоматизации анализа объектов окружающей среды и объектов биомедицины чаще всего используют проточно-инжекционные системы [20–23].

В настоящей статье сопоставлена электрокаталитическая активность частиц золота (Au) и смешанновалентных оксидов рутения (RuO_x), а также бинарной системы на их основе Au-RuO_x , электроосажденных на поверхность стеклоглеродного электрода (СУ), в условиях проточно-инжекционного анализа (ПИА). Показана возможность получения высоких характеристик определения цефотаксима, цефтриаксона и цефоперазона.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Циклические вольтамперограммы регистрировали с помощью вольтамперометрического анализатора Экотест-ВА (ООО “ЭКОНИК-ЭКСПЕРТ”, Россия). Циклические вольтамперограммы регистрировали при скорости развертки потенциала 20 мВ/с.

В работе использовали трехэлектродную ячейку. Электродом сравнения служил

хлоридсеребряный, вспомогательным — платиновая проволока. В качестве рабочего электрода применяли электроды из СУ и ХМЭ на основе СУ с электроосажденными частицами Au (Au-CU), смешанновалентными оксидами RuO_x , ($\text{RuO}_x\text{-CU}$) или бинарной системой Au-RuO_x ($\text{Au-RuO}_x\text{-CU}$). Перед модифицированием электрода проводили предварительную подготовку его поверхности: электрод из СУ шлифовали абразивными материалами, промывали дистиллированной водой.

Поверхность СУ модифицировали смешанновалентными оксидами RuO_x методом потенциодинамического электролиза из раствора RuCl_3 х. ч. фирмы Aldrich (США) в диапазоне потенциалов от -0.3 до 1.0 В в течение 20 циклов. Для электроосаждения частиц Au использовали потенциостатический электролиз в растворе HAuCl_4 х. ч. фирмы Aldrich (США) при потенциале электролиза (E_3) -0.3 В и времени электролиза (t_3) 3 мин. ХМЭ на основе бинарной системы Au-RuO_x готовили путем потенциостатического электроосаждения из раствора, содержащего RuCl_3 и HAuCl_4 при $E_3 = -0.3$ В и $t_3 = 3$ мин.

Для проведения ПИА собирали установку, включающую перистальтический насос ZALIMP (Польша), шприцевой инжектор, проточную электрохимическую ячейку ($V = 200$ мкл) и регистрирующее устройство — вольтамперометрический анализатор Экотест-ВА, совмещенный с персональным компьютером (рис. 1). После включения насоса коммуникационная система заполнялась раствором-носителем. Далее в поток жидкости вводили пробу с помощью шприцевого инжектора в направлении

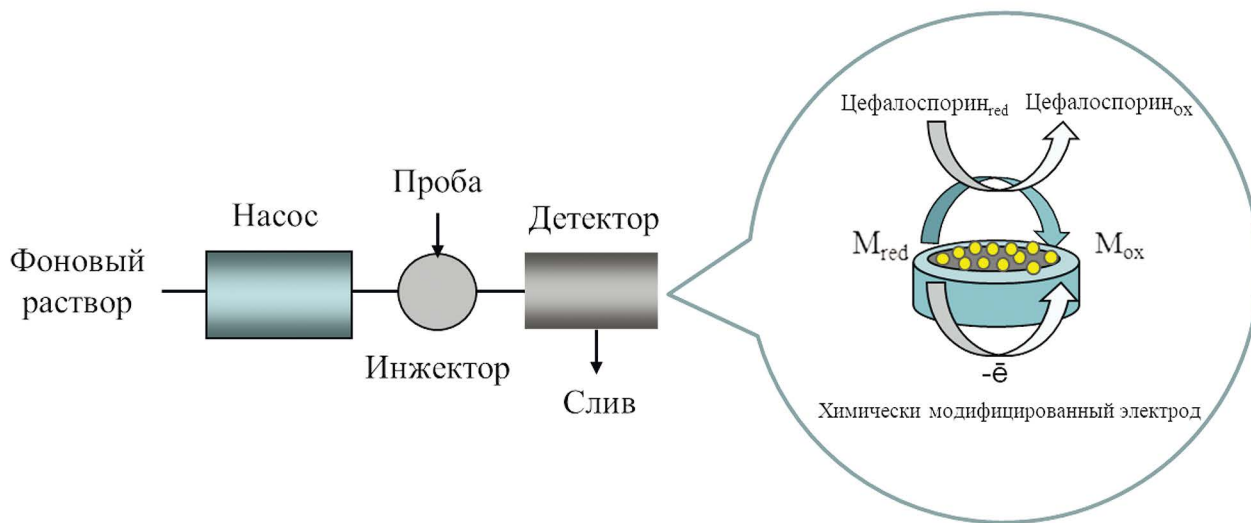


Рис. 1. Схема проточно-инжекционного анализа с амперометрическим детектированием на химически модифицированном электроде, где M_{ox} и M_{red} — окисленная и восстановленная формы модификатора соответственно.

к детектору — вольтамперометрическому анализатору, на котором регистрировали аналитический сигнал в потенциостатических условиях.

Определение цефалоспоринов методом ВЭЖХ-УФ проводили по стандартным методикам [24, 25]. Использовали хроматографическую систему LC-20 Prominence фирмы Shimadzu (Япония), оборудованную колонкой Ascentis®Express C18 150 × 4.6 мм, 5 мкм, предколонкой Holder 200 × 4.6 мм, насосом LC-20AD и диодно-матричным детектором SPD-M20A. Для управления системами хроматографа и регистрации хроматограмм использовали программное обеспечение LC solution. Разделение проводили со скоростью потока элюента 1 мл/мин. В качестве подвижной фазы использовали смесь хроматографически чистого ацетонитрила с фосфатным буферным раствором, который готовили путем добавления фосфорной кислоты к раствору Na_2HPO_4 до pH 6.25. Детектирование цефтриаксона осуществляли при длине волны 235 нм, а цефотаксима и цефоперазона — при 254 нм.

При вольтамперометрическом и проточном амперометрическом определении растворы цефалоспоринов готовили растворением точных навесок цефтриаксона, цефотаксима и цефоперазона х. ч. фирмы Aldrich (США) в растворе фонового электролита. Серии растворов меньших концентраций готовили разбавлением исходных растворов непосредственно перед измерениями. Для приготовления растворов лекарственных средств таблетки предварительно измельчали и растирали. Навеску порошка растертых

таблеток растворяли в 0.05 М H_2SO_4 и переносили в мерную колбу емк. 50 мл, встряхивали и доводили до метки этим же фоновым электролитом. Раствор тщательно перемешивали и фильтровали. В качестве фонового электролита в стационарных условиях и потока-носителя в проточных системах использовали 0.05 М H_2SO_4 .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Цефалоспорины относят к классу β -лактамов, в основе химической структуры которых лежит 7-аминоцефалоспориановая кислота (табл. 1). Окисление рассматриваемых цефалоспоринов на углеродных электродах протекает необратимо и при высоких анодных потенциалах (при $E_s > 1.20$ В), при повторном сканировании потенциала на вольтамперограмме наблюдается резкое уменьшение максимума тока, что указывает на низкую воспроизводимость вольт-амперных характеристик на немодифицированном электроде. Линейные зависимости величины предельного тока от концентрации соединений наблюдается в узких интервалах: 5×10^{-4} – 5×10^{-3} М для цефотаксима и 1×10^{-4} – 5×10^{-3} М для цефтриаксона и цефоперазона.

Среди сенсорных материалов-модификаторов широкое применение нашли переходные и благородные металлы благодаря таким свойствам, как высокая электрохимическая активность, химическая стабильность, нетоксичность и др. [26–30].

Таблица 1. Структурные формулы цефалоспоринов

Структурная формула цефалоспоринов	Наименование	R ₁	R ₂
	Цефтриаксон		
	Цефотаксим		
	Цефоперазон		

Нами сопоставлены каталитические свойства иммобилизованных частиц Au и смешанновалентных оксидов RuO_x , а также бинарной системы Au– RuO_x при электроокислении цефотаксима, цефтриаксона и цефоперазона.

Известно [21, 30–32], что при электроокислении смешанновалентных оксидов RuO_x реализуются переходы $\text{Ru(II)} \rightarrow \text{Ru(III)}$, $\text{Ru(III)} \rightarrow \text{Ru(IV)}$ и $\text{Ru(IV)} \rightarrow \text{Ru(VI)}$, в ходе которых генерируются каталитические центры, проявляющие высокую активность по отношению к различным органическим соединениям.

На рис. 2а приведена вольтамперограмма окисления цефтриаксона на электроде RuO_x –СУ, на которой наблюдается увеличение тока окисления модификатора при E_n 1.15 В и снижение потенциала окисления субстрата на ХМЭ на 50 мВ по сравнению с потенциалом его окисления на СУ ($E = 1.20$ В). Величина тока анодного пика, наблюдаемая при потенциалах окисления модификатора, зависит от концентрации цефтриаксона (рис. 2б). Все эти факторы указывают на каталитическую природу электрохимической реакции [33]. Схема электрокатализа приведена на рис. 1.

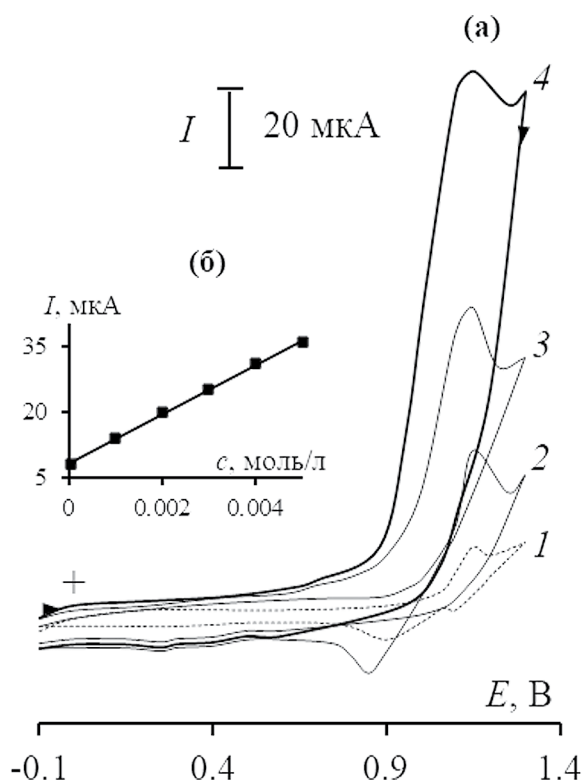


Рис. 2. (а): Циклические вольтамперограммы на электроде RuO_x –СУ в отсутствие цефтриаксона (1) и на электродах RuO_x –СУ (2), Au–СУ (3) и Au– RuO_x –СУ (4) в присутствии 5×10^{-3} М цефтриаксона на фоне 0.05 М H_2SO_4 . (б): Зависимость тока при $E = 1.15$ В от концентрации цефтриаксона на электроде RuO_x –СУ ($n = 6$, $P = 0.95$).

Ранее [26, 34, 35] разработаны электроды, модифицированные частицами Au, которые использовали для электрохимического определения различных биологически активных соединений. Установлено, что частицы Au, электроосажденные на поверхности СУ, каталитически активны и по отношению к цефтриаксону (рис. 2а, табл. 2). В этом случае на ХМЭ также наблюдается уменьшение перенапряжения цефтриаксона, увеличение тока по сравнению с фоновыми значениями, линейно зависящее от концентрации этого субстрата,

При переходе на электрод с бинарной системой Au– RuO_x получили наибольшее увеличение тока окисления цефтриаксона по сравнению с электродами Au–СУ или RuO_x –СУ (рис. 2а, табл. 2), что, вероятно, связано с проявлением аддитивного эффекта при формировании на поверхности электрода каталитических центров различной природы. Установлено, что бинарная система Au– RuO_x также проявляет высокую каталитическую активность при окислении цефотаксима и цефоперазона (табл. 2).

Разработанный модифицированный электрод Au– RuO_x –СУ использовали в качестве амперометрического детектора при определении цефтриаксона, цефотаксима и цефоперазона в проточно-инжекционной системе.

Для регистрации сигнала в проточной системе использовали потенциостатический режим. Установили рабочие условия регистрации амперометрического отклика при проточно-инжекционном определении цефалоспоринов на ХМЭ. На рис. 3 в качестве примера приведены зависимости тока окисления цефтриаксона от накладываемого потенциала (E), объема инжестируемой пробы (V) и скорости подачи раствора-носителя (u). Для остальных исследуемых соединений

Таблица 2. Вольтамперные характеристики окисления органических соединений ($c = 5 \times 10^{-3}$ М) на фоне 0.05 М H_2SO_4

Субстрат	Модификатор	$E_{\text{кат}}, \text{В}$	$I_{\text{кат}}, \text{мкА}$
Цефтриаксон	Au	1.15	54
	RuO_x	1.15	36
	Au– RuO_x	1.15	100
Цефотаксим	Au– RuO_x	1.05	224
Цефоперазон	Au– RuO_x	1.10	153

Примечание: $E_{\text{кат}}$, $I_{\text{кат}}$ – потенциал и ток окисления субстрата на ХМЭ.

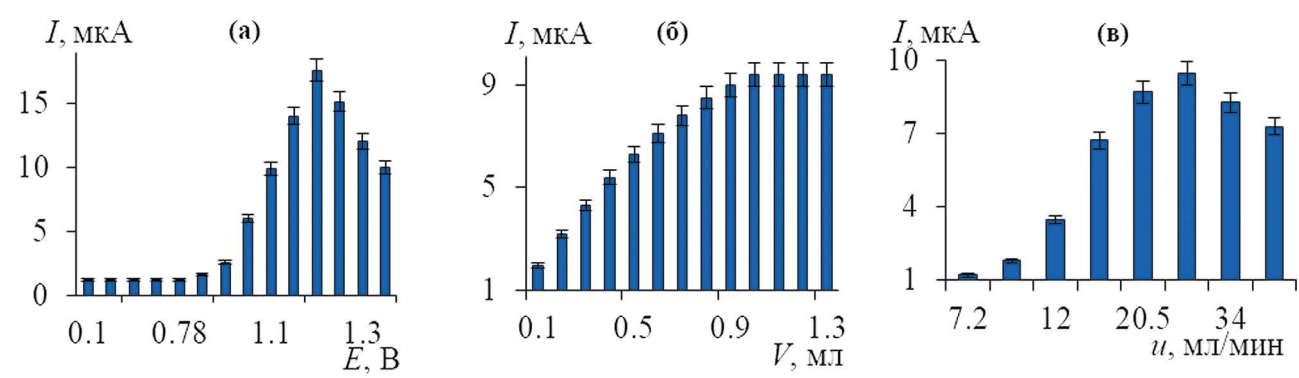


Рис. 3. Зависимость тока окисления цефтриаксона ($c = 5 \times 10^{-3}$ М) на электроде Au–RuO_x–СУ от (а) накладываемого потенциала, (б) объема пробы и (в) скорости потока в условиях проточно-инжекционного анализа на фоне 0.05 М Н₂SO₄ ($n = 6$, $P = 0.95$).

получили аналогичные зависимости. В качестве рабочих условий амперометрического детектирования в системе ПИА выбрали значения, при которых регистрировали наибольший по величине аналитический сигнал: $V = 1.0$ мл, $u = 27.5$ мл/мин и $E = 1.20, 1.10, 1.15$ В для цефтриаксона, цефотаксима и цефоперазона соответственно. Для количественной оценки степени дисперсии пробы в потоке при выбранных параметрах детектирования рассчитали коэффициент дисперсии (D). Получено значение $D = 2$, что соответствует ограниченной дисперсии [36].

Аналитические характеристики, полученные при детектировании цефтриаксона, цефотаксима и цефоперазона в стационарном режиме и в проточных условиях представлены в табл. 3. Разработанный проточно-инжекционный амперометрический способ определения цефалоспоринов на электроде Au–RuO_x–СУ позволяет проводить их определение в более широком интервале концентраций и снизить нижнюю границу определяемых содержаний на три порядка по сравнению с аналитическими характеристиками, полученными при

Таблица 3. Аналитические характеристики определения цефтриаксона, цефотаксима и цефоперазона методами циклической вольтамперометрии и проточно-инжекционной амперометрии на электроде Au–RuO_x–СУ на фоне 0.05 М Н₂SO₄ ($n = 6$, $P = 0.95$)

Аналит	Диапазон концентраций, М	Уравнение регрессии $\lg I = a + b \lg c$ (I , мкА; c , М)		R^2
		$a \pm \Delta a$	$b \times 10 \pm \Delta b$	
Циклическая вольтамперометрия (стационарные условия)				
Цефтриаксон	$5 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-3}$	3.60 ± 0.06	6.9 ± 0.2	0.9981
Цефотаксим	$5 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-3}$	3.23 ± 0.06	3.6 ± 0.1	0.9961
Цефоперазон	$5 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-3}$	3.07 ± 0.07	3.6 ± 0.2	0.9940
Проточно-инжекционная амперометрия (проточные условия)				
Цефтриаксон	$5 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-3}$	2.39 ± 0.03	3.36 ± 0.05	0.9990
Цефотаксим	$5 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-3}$	2.62 ± 0.04	2.95 ± 0.08	0.9969
Цефоперазон	$5 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-3}$	2.47 ± 0.02	2.97 ± 0.04	0.9992

электроокисления цефалоспоринов на немодифицированном СУ.

На рис. 4 показана зависимость аналитического сигнала от концентрации аналита при амперометрическом определении цефтриаксона в условиях ПИА. За счет непрерывного обновления поверхности электрода раствором потока-носителя в проточной электрохимической ячейке отмечается хорошая повторяемость аналитического сигнала. Рассчитанные значения s_r не превышают 2.0% ($n = 10$, $P = 0.95$). Теоретическая производительность разработанного способа амперометрического детектирования в условиях ПИА достигает 180 проб/ч (при времени отклика ХМЭ 20 с).

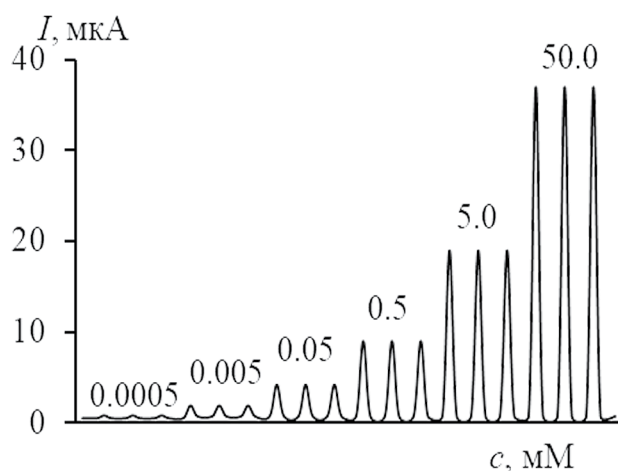


Рис. 4. Зависимость тока окисления цефтриаксона на электроде $\text{Au}-\text{RuO}_x-\text{CU}$ от его концентрации в условиях проточно-инжекционного анализа на фоне 0.05 М H_2SO_4 ($n = 6$, $P = 0.95$).

Разработанные способы амперометрического определения цефотаксима, цефтриаксона и цефоперазона на электроде $\text{Au}-\text{RuO}_x-\text{CU}$ использовали при анализе некоторых лекарственных средств. Приготовленные растворы лекарственных средств инжестировали в проточную систему, затем регистрировали хроноамперограмму, на которой измеряли величину тока при выбранном для каждого аналита потенциале. Результаты определения цефтриаксона, цефотаксима и цефоперазона по амперометрическому отклику электрода $\text{Au}-\text{RuO}_x-\text{CU}$ в условиях ПИА в некоторых лекарственных средствах приведены в табл. 4. Полученные результаты проточно-инжекционного определения цефалоспоринов на ХМЭ сопоставлены с результатами, полученными методом ВЭЖХ-УФ, рекомендуемым государственной фармакопеей [24, 25]. Анализ результатов по F - и t -критериям показал, что методы равнозначны ($F_{\text{расч}} < F_{\text{табл}}$), а расхождение между средними результатами незначимы ($t_{\text{расч}} < t_{\text{табл}}$).

Сочетание ПИА с амперометрией на модифицированном электроде с каталитическими свойствами обеспечивает высокую чувствительность, воспроизводимость и экспрессность определений, что выгодно отличает разработанный способ определения от описанных в литературе электрохимических способов определения цефалоспоринов на других модифицированных электродах [37–40]. Для разработанного электрода характерна хорошая стабильность каталитического отклика, которая сохраняется в течение недели при непрерывном использовании ($s_r < 0.04$).

Таким образом, разработанный электрод $\text{Au}-\text{RuO}_x-\text{CU}$ можно использовать для проточно-инжекционного амперометрического определения цефотаксима, цефтриаксона и цефоперазона в фармацевтической продукции.

Таблица 4. Результаты определения цефтриаксона, цефотаксима и цефоперазона в лекарственных препаратах методом проточно-инжекционной амперометрии на электроде $\text{Au}-\text{RuO}_x-\text{CU}$ (метод I) и методом ВЭЖХ-УФ (метод II) ($n = 6$, $P = 0.95$, $F_{\text{табл}} = 5.05$, $t_{\text{табл}} = 2.57$)

Лекарственный препарат	Аналит	Содержание в препарате, г	Найдено, г		$F_{\text{расч}}$	$t_{\text{расч}}$
			метод I	метод II		
Цефтриаксон "ПАО Красфарма"	Цефтриаксон	1.0	0.99 ± 0.02	1.01 ± 0.03	2.34	1.35
Цефотаксим "Фармстандарт"	Цефотаксим	1.0	1.02 ± 0.03	1.01 ± 0.01	2.30	0.67
Цефоперазон "ПАО Красфарма"	Цефоперазон	1.0	1.01 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.02	0.87

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (“Приоритет-2030”).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Яковлев С.В. Современное значение цефалоспоринов при лечении инфекций в стационаре // РМ Ж. 2005. № 10. С. 720.
2. Mamdouh S.M., Alaa E.A., Nessma N.M. Chemistry, classification, pharmacokinetics, clinical uses and analysis of beta lactam antibiotics: A review // J. Chem. Pharm. Res. 2014. V. 6. № 11. P. 28.
3. Rageh A.H., El-Shaboury S.R., Saleh G.A., Mohamed F.A. Spectrophotometric method for determination of certain cephalosporins using 4-chloro-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole (NBD-Cl) // Nat. Sci. 2010. V. 2. № 8. P. 828.
4. Ali Ahmed S.M., Elbashir A.A., Aboul-Enein H.Y. New spectrophotometric method for determination of cephalosporins in pharmaceutical formulations // Arab. J. Chem. 2015. V. 8. № 2. P. 233.
5. Gaudin K., Langlois M.-H., Kauss T., Phoeung T., Arrachart S., Demartini A.-M., et al. In vitro ceftriaxone stability at new-borns' rectal PH assessed by UV and HPLC methods // Pharm. Anal. Acta. 2015. V. 6. № 7. P. 393.
6. Abdellatef H.E., Shalaby A.A., Elsaid H.M., Ayad M.M. Colorimetric and titrimetric methods for determination of some cephalosporins in their pure and dosage forms // Sci. Pharm. 2000. V. 68. № 3. P. 263.
7. Narala S.R., Saraswathi K. RP-HPLC Methods for the determination of cephalosporins (cefditoren pivoxil and cefdinir) in pharmaceutical dosage forms // J. Pharm. Sci. Res. 2011. V. 3. № 1. P. 1002.
8. Писарев В.В., Зайцева К.В., Смирнова Л.Б., Белолипецкая В.Г., Кибальчик Д.А., Колтунов И.Е. Определение цефиксима в плазме крови методом ВЭЖХ // Антибиотики и химиотерапия. 2009. Т. 54. № 7–8. С. 37.
9. Kang Y.S., Lee S.Y., Kim N.H., Choi H.M., Park J.S., Kim W., Lee H.J. A specific and rapid HPLC assay for the determination of cefroxadine in human plasma and its application to pharmacokinetic study in Korean // J. Pharm. Biomed. Anal. 2006. V. 40. № 2. P. 369.
10. El-Shaboury S.R., Saleh G.A., Mohamed F.A., Rageh A.H. Analysis of cephalosporin antibiotics // J. Pharm. Biomed. Anal. 2007. V. 45. № 1. P. 1.
11. Rigo-Bonnin R., Arbiol-Roca A., Cobo-Sacristan S., Padulles A., Murillo O., Shaw E., et al. Development and validation of a measurement procedure based on ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for simultaneous measurement of β -lactam antibiotic concentration in human plasma // Clin. Chim. Acta. 2017. V. 468. № 21. P. 215.
12. Kaya S.I., Karabulut T.C., Kurbanoglu S., Ozkan S.A. Chemically modified electrodes in electrochemical drug analysis // Curr. Pharm. Anal. 2020. V. 16. № 6. P. 641.
13. Ren S., Zeng J., Zheng Z., Shi H. Perspective and application of modified electrode material technology in electrochemical voltammetric sensors for analysis and detection of illicit drugs // Sens. Actuators A: Phys. 2021. V. 329. № 4. Article 112821.
14. Шайдарова Л.Г., Будников Г.К. Химически модифицированные электроды на основе благородных металлов, полимерных пленок или их композитов в органической вольтамперометрии. Обзор // Журн. аналит. химии. 2008. Т. 63. № 10. С. 1014. (Shaidarova L.G., Budnikov H.C. Chemically modified electrodes based on noble metals, polymer films, or their composites in organic voltammetry: A review // J. Anal. Chem. 2008. V. 63. № 10. P. 922.)
15. Jamasbi E.S., Rouhollahi A., Shahrokhian S. The electrocatalytic examination of cephalosporins at carbon paste electrode modified with CoSalophen // Talanta. 2007. V. 71. № 4. P. 1669.
16. Shahrokhian S., Ranjbar S., Ghalkhani M. Modification of the electrode surface by Ag nanoparticles decorated nano diamond-graphite for voltammetric determination of ceftizoxime // Electroanalysis. 2016. V. 28. № 3. P. 469.
17. Shahrokhian S., Rastgar S. Construction of an electrochemical sensor based on the electrodeposition of Au–Pt nanoparticles mixtures on multi-walled carbon nanotubes film for voltammetric determination of cefotaxime // Analyst. 2012. V. 137. № 11. P. 2706.
18. Шайдарова Л.Г., Будников Г.К. / Проблемы аналитической химии. Т. 14. Химические сенсоры / Под ред. Власова Ю.Г.М.: Наука, 2011. С. 203.
19. Шайдарова Л.Г., Челнокова И.А., Лексина Ю.А., Хайруллина Д.Ю., Будников Г.К. Проточно-инжекционное амперометрическое определение 5-гидрокситриптофана, пиридоксина и аскорбиновой кислоты на планарном электроде, модифицированном частицами бинарной системы золотопалладий // Аналитика. 2022. Т. 12. № 4. С. 280.
20. Шайдарова Л.Г., Будников Г.К. Амперометрическое детектирование лекарственных веществ в проточно-инжекционном анализе / Фармацевтический анализ. Сер. “Проблемы аналитической химии”. М.: АНРАМАК-МЕДИА, 2013. С. 580.
21. Shaidarova L.G., Chelnokova I.A., Pina M.A., Gedmina A.V., Budnikov H.C. Amperometric detection of caffeine and paracetamol on a dual screen printed electrode modified with mixed-valence ruthenium and cobalt oxides in flow-injection analysis // Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci. 2016. V. 7. № 6. P. 2884.

22. Ayaz S., Dilgin Y., Apak R. Flow injection amperometric determination of hydrazine at a cupric-neocuproine complex/anionic surfactant modified disposable electrode // *Microchem. J.* 2020. V. 159. № 1. Article 105457.
23. McCormick W., Muldoon C., McCrudden D. Electrochemical flow injection analysis for the rapid determination of reducing sugars in potatoes // *Food Chem.* 2021. V. 340. № 3. Article 127919.
24. Цефотаксим (ФС 2.1.0212.18). XIV Государственная Фармакопея Российской Федерации. Часть 3. Москва, 2018. С. 5068.
25. Цефтриаксон (ФС 2.1.0213.18). XIV Государственная Фармакопея Российской Федерации. Часть 3. Москва, 2018. С. 5075.
26. Шайдарова Л.Г., Челнокова И.А., Лексина Ю.А., Ильина М.А., Гедмина А.В., Будников Г.К. Проточно-инжекционное амперометрическое определение дофы и тирозина на двойном электрода, модифицированном бинарной системой золото-кобальт // *Журн. аналит. химии.* 2018. Т. 73. № 2. С. 129. (Shaidarova L.G., Chelnokova I.A., Leksina Yu. A., Il'ina M.A., Gedmina A.V., Budnikov H.C. Flow-injection amperometric determination of dopa and tyrosine at a dual electrode modified with the gold-cobalt binary system // *J. Anal. Chem.* 2018. V. 73. № 2. P. 176.)
27. Yang P., Wang X., Ge C., Fu X., Liu X., Chai H., et al. Fabrication of CuO nanosheets-built microtubes via Kirkendall effect for non-enzymatic glucose sensor // *Appl. Surf. Sci.* 2019. V. 494. № 16. P. 484.
28. Yang B., Qiao J., Yu Y., Yuan L., Hu X. The simple-preparation of Cu–Ni/CuO–NiO using solution plasma for application in a glucose enzyme-free sensor // *New J. Chem.* 2020. V. 44. № 26. P. 10806.
29. Liu H.F., Wang P., Zhang Q., Wang Z., Liu Y., Zheng Z., et al. Porous Co₃O₄ nanosheets as a high-performance non-enzymatic sensor for glucose detection // *Anal. Bioanal. Chem.* 2018. V. 410. № 29. P. 7663.
30. Шайдарова Л.Г., Челнокова И.А., Ильина М.А., Гедмина А.В., Будников Г.К. Амперометрическое детектирование гидроксипуринов на электроде, модифицированном композитом на основе смешановалентных оксидов рутения и кобальта, в условиях проточно-инжекционного анализа // *Журн. аналит. химии.* 2017. Т. 72. № 1. С. 91. (Shaidarova L.G., Chelnokova I.A., Il'ina M.A., Gedmina A.V., Budnikov H.C. Amperometric detection of hydroxypurines at an electrode modified with a composite based on mixed-valence ruthenium and cobalt oxides in flow injection analysis // *J. Anal. Chem.* 2017. V. 72. № 1. P. 107.)
31. Шайдарова Л.Г., Челнокова И.А., Ильина М.А., Махмутова Г.Ф., Ахматханова Ф.Ф., Будников Г.К. Порционно-инжекционное амперометрическое определение кофеина и теофиллина на электроде, модифицированном углеродными нанотрубками и оксидами рутения // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. № 8. С. 743. (Shaidarova L.G., Chelnokova I.A., Il'ina M.A., Makhmutova G.F., Akhmatkhanova F.F., Budnikov H.C. Batch-injection amperometric determination of caffeine and theophylline on an electrode modified by carbon nanotubes and ruthenium oxides // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. № 8. P. 1066.)
32. Kivraki., Selçuk K., Faruk Er O., Aktas N. Nanostructured electrochemical cysteine sensor based on carbon nanotube supported Ru, Pd, and Pt catalysts // *Mater. Chem. Phys.* 2021. V. 267. № 3. Article 124689.
33. Будников Г.К., Майстренко В.Н., Евтюгин Г.А. Основы современного электрохимического анализа. М.: БИНО М. Лаборатория знаний, 2003. С. 592.
34. Шайдарова Л.Г., Лексина Ю.А., Челнокова И.А., Ильина М.А., Гедмина А.В., Будников Г.К. Двойной планарный электрод с биметаллической системой золото-палладий для проточно-инжекционного амперометрического определения дофамина и аскорбиновой кислоты // *Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки.* 2018. Т. 160. № 1. С. 40.
35. Шайдарова Л.Г., Челнокова И.А., Ильина М.А., Лексина Ю.А., Будников Г.К. Амперометрическое детектирование триптофана и пиридоксина на двойном планарном электроде, модифицированном наночастицами золота, в проточно-инжекционной системе // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 74. № 6. С. 437. (Shaidarova L.G., Chelnokova I.A., Il'ina M.A., Leksina Yu. A., Budnikov H.C. Amperometric detection of tryptophane and pyridoxine on a dual screen-printed electrode modified by gold nanoparticles in a flow-injection system // *J. Anal. Chem.* 2019. V. 74. № 6. P. 584.)
36. Москвин Л.Н., Булатов А.В., Москвин А.Л. Проточные методы анализа. СПб: ВВМ, 2008. С. 48.
37. Yue X., Xu X., Liu C., Zhao S. Simultaneous determination of cefotaxime and nimesulide using poly(L-cysteine) and graphene composite modified glassy carbon electrode // *Microchem. J.* 2022. V. 174. № 1. Article 107058.
38. Hassine C.B.A., Güngör Ö., Burç M., Özcan İ., Köytepe S., Duran S.T. Electrochemical determination of ceftriaxone using polyurethane-modified electrode containing caffeic acid and chitosan // *Polym. Plast. Technol. Mater.* 2022. V. 61. № 6. P. 609.
39. Majdi S., Jabbari A., Heli H., Yadegari H., Moosavi-Movahedi A.A., Haghighi S. Electrochemical oxidation and determination of ceftriaxone on a glassy carbon and carbon-nanotube-modified glassy carbon electrodes // *J. Solid State Electrochem.* 2009. V. 13. № 3. P. 407.
40. Majidi M.R., Asadpour-Zeynali K., Hafezi B. Electrocatalytic oxidation and determination of ceftriaxone sodium antibiotic in pharmaceutical samples on a copper hexacyanoferrate nanostructure // *Anal. Methods.* 2011. V. 3. № 3. P. 646.

FLOW-INJECTION AMPEROMETRIC DETERMINATION OF CEFTRIAZONE, CEFOTAXIME, AND CEFOPERAZONE ON AN ELECTRODE MODIFIED WITH A BINARY SYSTEM OF GOLD PARTICLES AND MIXED-VALENCE RUTHENIUM OXIDES

L. G. Shaidarova^{a,*}, I. A. Chelnokova^a, M. A. Ilyina^a, G. K. Budnikov^a

^a*Kazan Federal University, A.M. Butlerov Chemical Institute, 420008 Kazan, Russia*

^{*}*E-mail: LarisaShaidarova@mail.ru*

Abstract. Modified electrodes based on gold particles and mixed-valence ruthenium oxides, as well as a binary system based on them, were developed for voltammetric determination of ceftriazone, cefotaxime, and cefoperazone. The electrode with the binary system of gold particles and mixed-valence ruthenium oxides, which exhibited the best characteristics, was used to detect cephalosporins under flow-injection analysis conditions. Optimal detection conditions for cephalosporins in the flow-injection system were selected. The dependence of the analytical signal on the concentration of the examined compounds in logarithmic coordinates is linear within the range from 5×10^{-7} to 5×10^{-3} M. The proposed method for determining cephalosporins was tested during the analysis of pharmaceutical products.

Keywords: chemically modified electrodes, electrooxidation, cephalosporins, flow-injection analysis.