

Том 79, Номер 10

ISSN 0044-4502
Октябрь 2024



ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ



НАУКА

— 1727 —

СОДЕРЖАНИЕ

Том 79, номер 10, 2024

ОБЗОРЫ

Хроматографические методы в идентификации и определении компонентного состава и качества вин

З. А. Темердашев, А. Г. Абакумов, О. Н. Шелудько, Ю. Ф. Якуба, Т. Г. Цюпко 1049

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Эффективность сорбентов с различной аллотропной формой углерода, в том числе модифицированных углеродных нанотрубок

С. С. Гражулене, Н. И. Золотарева, И. И. Ходос 1078

Мицеллярная микроэкстракция на основе алкилполиглицозидов для концентрирования и спектрофотометрического определения фосфат-ионов в водных средах

И. И. Тимофеева, М. А. Кочеткова, Д. Д. Двойных, Я. В. Сафинская, Е. А. Зубакина, А. В. Булатов 1089

Некоторые аспекты разработки методики селективного определения витамина Е на поверхности кожи человека при нанесении масляных препаратов

Е. С. Волошина, Б. К. Зуев, А. В. Михайлова 1097

Взаимодействие ванадия(V) с 4-(2',3',4'-тригидроксифенил)-3-нитро-5-сульфоазобензолом в присутствии катионных поверхностно-активных веществ

В. И. Марданова, Х. Д. Нагиев, Ф. М. Чырагов 1104

Термодинамическое моделирование состава основных фоновых ионов и определение газокинетической температуры в нормальной ("горячей") индуктивно связанной плазме

А. А. Пупышев, П. В. Кель, М. Ю. Бурulin, А. Г. Абакумов, П. Г. Абакумов 1110

Валидация метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения фталатов в воде на уровне следов в режиме онлайн

Т. А. Григорьева, А. В. Кузьмин, А. Г. Горшков 1122

Хромато-масс-спектрометрическое определение гидроксилированных полиароматических углеводов в моче с помощью дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции и дериватизации в порту инжектора

А. Н. Алексеенко, О. М. Журба, А. В. Меринов, С. Ф. Шаяхметов 1132

ХРОНИКА

Юбилей Анатолия Григорьевича Ревенко 1141

Юбилей Владислава Вениаминовича Малахова 1143

CONTENTS

V. 79, № 10, 2024

REVIEWS

Chromatographic methods in the identification and determination of the component composition and quality of wines

Z. A. Temerdashev, A. G. Abakumov, O. N. Sheludko, Yu. F. Yakub, T. G. Tsyupko 1049

ORIGINAL ARTICLES

Effectiveness of sorbents with various allotropic forms of carbon, including modified carbon nanotubes

S. S. Grazhulene, N. I. Zolotareva, I. I. Hodos 1078

Micellar microextraction with alkyl polyglycosides for preconcentration and spectrophotometric determination of phosphate ions in aqueous media

I. I. Timofeeva, M. A. Kochetkova, D. D. Dvoynikh, Ya. V. Safinskaya, E. A. Zubakina, A. V. Bulatov 1089

Some aspects of the development of a technique for the selective determination of vitamin E on the surface of human skin when applying oil preparations

E. S. Voloshina, B. K. Zuev, A. V. Mikhailova 1097

Vanadium(V) interaction with 4-(2',3',4'-hydroxyphenyl)-3-nitro-5-sulfoazobenzene in the presence of cationic surfactants

V. I. Mardanov, H. D. Nagiev, F. M. Chiragov 1104

Thermodynamic modeling of the composition of the main background ions and determination of the gas kinetic temperature in a normal (hot) inductively coupled plasma

A. A. Pupyshev, P. V. Kel, M. Yu. Burylin, A. G. Abakumov, P. G. Abakumov 1110

Validation of the high-performance liquid chromatography method for the determination of phthalates in water at the trace level online

T. A. Grigorieva, A. V. Kuzmin, A. G. Gorshkov 1122

Chromato-mass spectrometric determination of hydroxylated polyaromatic hydrocarbons in urine by dispersion liquid-liquid microextraction and derivatization in the injector port

A. N. Alekseenko, O. M. Zhurba, A. V. Merinov, S. F. Shayakhmetov 1132

CHRONICLES

Anniversary of A. G. Revenko 1141

Anniversary of V. V. Malakhov 1143

УДК 543.61 + 663.253

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ИДЕНТИФИКАЦИИ И ОПРЕДЕЛЕНИИ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА И КАЧЕСТВА ВИН

© 2024 г. З. А. Темердашев^{а, *}, А. Г. Абакумов^а, О. Н. Шелудько^б, Ю. Ф. Якуба^б, Т. Г. Цюпко^а

^а Кубанский государственный университет, факультет химии и высоких технологий,
ул. Ставропольская, 149, 350040 Краснодар, Россия

^б Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия
ул. 40-летия Победы, 39, 350040 Краснодар, Россия

* E-mail: temza@kubsu.ru

Поступила в редакцию 08.04.2024 г.

После доработки 15.05.2024 г.

Принята к публикации 15.05.2024 г.

Представлен обзор литературы и нормативных документов по идентификации и определению органических соединений, формирующих компонентный состав и потребительские свойства вин. Отмечено, что возможности, информативность и универсальность современных хроматографических методов в сочетании с математическим обеспечением значительно повысили степень автоматизации и достоверность получения данных по идентификации и определению широкого спектра компонентов в вине. Обсуждаются условия определения высоких и низких концентраций органических соединений, входящих в компонентный состав и обуславливающих качественные и региональные характеристики вин. Для решения задач идентификации и определения компонентов, ответственных за достоинства и недостатки винодельческой продукции, наибольшее применение находят различные методы газовой хроматографии и газовой хромато-масс-спектрометрии, обеспечивающие достоверное определение относительно летучих компонентов. Нелетучие компоненты вин определяют методами высокоэффективной жидкостной хроматографии с различными способами детектирования, а также высокоэффективного капиллярного электрофореза. Проанализированы основные подходы к установлению профиля и региональной принадлежности вин по компонентному составу, сочетающие возможности современных аналитических методов с методами статистического анализа, — множественный регрессионный анализ, общие линейные модели, многомерное шкалирование, ковариационный и канонический анализ, методы классификации и машинного обучения, нейронные сети. Продемонстрированы примеры их использования на практике.

Ключевые слова: вина, компонентный состав, качество, региональная принадлежность, методы статистического анализа.

DOI: 10.31857/S0044450224100014, **EDN:** TFXUJH

Площадь виноградников в мире с 2017 г. стала относительно стабильной и оценивается в 7.3 млн га, из которых 80% приходится на технические сорта винограда, применяемые в виноделии [1]. В 2022 г. мировое производство вина оценивалось в 260 млн гл, производство винодельческой продукции в Российской Федерации составляло 6.5 млн гл. Мировое потребление вина, согласно информации Международной организации по виноградарству и виноделию (МОВВ), оценивается в 236 млн гл, в России — 10.5 млн гл и составляет 4% от мирового объема. Производство вина в России способно удовлетворить спрос

потребителей на 60%, но российское виноделие сталкивается на внутреннем рынке страны с достаточно жесткой конкуренцией экспортеров. Основопологающей составляющей запаса конкурентоспособности является стабильное качество вина независимо от внешней среды, включая колебания климатических условий года урожая. МОВВ в 2023 г. актуализировала сборник международных методов анализа вина и суслу, который играет важную роль в гармонизации методов анализа, регламентирует различные приемы, подходы к анализу испытуемых образцов [2]. Многие выращивающие виноград страны, в том числе

Российская Федерация, включили методы анализа вина и суслу МОВВ в перечень национальных стандартов. Аналитический контроль качества вина в Российской Федерации обеспечивается официальными нормативными документами, во многом гармонизированными с директивами МОВВ, а с 2022 г. действует ГОСТ Р 59570-2021, распространяющийся на винодельческую продукцию из винограда *Vitis vinifera* L. и гибридов, полученных скрещиванием сортов *Vitis vinifera* L. с сортами винограда других видов рода *Vitis* [3].

Предложить единый подход к оценке качества виноградного сырья и готовых вин весьма проблематично, на их типичность и индивидуальность влияет множество факторов — регион возделывания, климатические условия, время и способ уборки винограда, способы ферментации, технологические обработки, выдержка в бутылке или контакт с древесиной дуба. Аутентичность пищевых продуктов, особенно продуктов с добавленной стоимостью (вино, оливковое масло и др.), была и остается одной из наиболее важных проблем, с которыми сталкиваются и потребители, и ученые. Процедура анализа вин предусматривает использование различных схем подготовки проб и детектирование различными методами анализа. Авторы работы [4] сформулировали основные требования к оценке подлинности и качества вина, включающие применение современных методов анализа, которые совместно с методами многомерного анализа будут способствовать обнаружению фальсификаций вина.

Химический состав винограда и изготавливаемой из него винодельческой продукции, примеры установления натуральных и фальсифицированных вин, подходов к комплексной идентификации и создания системы оценки качества винодельческой продукции по элементному составу обсуждены в обзоре [5]. Проанализированы основные подходы к установлению региональной принадлежности вин, включающие достижения современных аналитических приборов с передовыми методическими разработками и возможностями методов математического моделирования, продемонстрированы примеры их использования на практике.

Для контроля органического компонентного состава виноградного сырья и винодельческой продукции аналитики чаще всего используют хроматографические методы [6–8]. Достижимая информативность и универсальность этих методов, гибридных аппаратных решений с современным программным обеспечением позволяют повысить степень автоматизации процесса анализа и достоверность полученных данных [9]. Отметим также, что для оценки содержания нормируемых веществ в вине Международный кодекс энологиче-

ской практики предусматривает преимущественно хроматографические методы анализа [10, 11].

Сложность анализа вин обусловлена многими факторами — агротехникой, типом почвы, сортом винограда, необходимостью контроля применяемых технологий переработки и составов вспомогательных материалов [12, 13]. В сельскохозяйственном обороте виноградарства находятся более 4000 сортов винограда, большинство из которых используется для промышленного виноделия и составляет довольно широкий спектр компонентов — более 1000 веществ с концентрациями от нг/л до г/л.

В настоящем обзоре обсуждаются вопросы идентификации и определения входящих в компонентный состав вин органических соединений, формирующих их основные потребительские (аромат и вкус) свойства. Проанализированы основные подходы к установлению защищенного наименования происхождения и региональной принадлежности вин по компонентному составу, сочетающие возможности современных аналитических методов с методами статистического анализа, продемонстрированы примеры их использования на практике.

ОСНОВНЫЕ КЛАССЫ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ, ФОРМИРУЮЩИХ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ СВОЙСТВА ВИН

Летучие органические соединения. Вкусовые и ароматические свойства вина во многом формируются летучими органическими соединениями (ЛОС) [14]. В состав ЛОС входят спирты, альдегиды предельного ряда, эфирные соединения, кислоты (от C_2 до C_{12}), терпены и карбонильные соединения.

Спирты в вине образуются в результате декарбоксилирования/дезаминирования аминокислот (65%) и сахаров (35%) при выдержке вина [15], их содержание зависит от штамма дрожжей, температуры брожения, pH суслу, аэрации, сорта и зрелости ягод винограда [16]. В продукции виноделия этиловый спирт содержится в пределах 10–15 об. % [17]. Концентрация остальных спиртов в вине колеблется от 300 до 600 мг/л, из которых доля изоамилового спирта обычно составляет более 50% [18]. Изомерные спирты обладают более приятным запахом, чем спирты нормального строения, а вторичные спирты имеют более слабый запах [19]. Бутиловый, амиловый и гексиловый спирты придают вину типичный сивушный запах и жгучий вкус [20]. Изоамиловый и фенилэтиловый спирты повышают интенсивность запаха, влияя на аромат вина, и придают цветочные, медовые и фруктовые ноты [14, 20]. В винах присутствуют и другие многоатомные спирты — глицерин, 2,3-бутандиол, 1,2-пропиленгликоль, 1,3-пропиленгликоль

и их ацетатные эфиры в незначительных количествах. Евросоюз нормирует содержание 1,2-пропил-ленгликоля в сухих, полусухих, полусладких и сладких винах на уровне не более 150 мг/л, в шампанских — 300 мг/л [21].

Карбонильные соединения в вине представлены альдегидами и кетонами. Альдегиды предельного ряда — компоненты вторичных продуктов спиртового брожения — придают вину резкий аромат, привкус и горечь [18]. Предельные альдегиды — изомасляный, изовалериановый, капроновый и каприновый — формируют аромат вин [22]. Акролеин и кротоновый альдегид создают неприятный запах и жгучий вкус вин. Постоянный компонент вина — фурфурол до 30 мг/л придает приятный аромат ржаного хлеба, большие его концентрации приводят к неприятным тонам во вкусе [23]. На ацетальдегид (этаналь) приходится 85–90% от суммы всех альдегидов [24], в вине присутствуют также продукты его конденсации — диацетил и ацетоин [25]. Содержание последних характеризует качество исходного сырья для получения вина, их избыток свидетельствует о низком качестве виноградного сусла [25]. Кетоны образуются при окислении липидов и ферментации, внося небольшой вклад в аромат вина из-за высокого порога чувствительности. Содержание диацетала от 5 до 7 мг/л придает неприятный привкус и маслянистый молочный запах вину, а от 1 до 4 мг/л может придать желаемый маслянистый или ирисочный аромат [15].

Эфирные соединения способствуют получению вин с фруктовыми и/или цветочными ароматами и образуются в период брожения. Они представляют собой наиболее важные ферментативные ароматические соединения, влияющие на вкус [14, 26]. Этиловые эфиры карбоновых кислот с короткой и средней длиной цепи (C_2 – C_{10}) и ацетаты спиртов с короткой цепью (C_4 – C_6) обнаруживаются в вине в концентрациях, превышающих их порог чувствительности (несколько мкг/л) [27].

Кислоты (от C_2 до C_{12}) образуются при винном брожении в концентрациях от 500 до 1000 мг/л [28]. Уксусная кислота составляет более 90% от общего содержания летучих кислот, отвечает за уксусоподобный запах и отрицательно влияет на качество вина при концентрациях выше 0.7–1.1 г/л [29]. Винная, яблочная, лимонная, янтарная, капроновая, каприловая и каприновая кислоты являются также распространенными компонентами вина и, как правило, ухудшают его органолептические свойства [30, 31].

Терпены отвечают за фруктовый и цветочный аромат, уровни их содержания в винограде и вине зависят от сорта винограда, зрелости ягод, географического региона и метода виноделия [32, 33]. Могут встречаться в виде углеводов (α -терпенин), спиртов (линалоол), альде-

гидов (линалал), кетонов (геранилацетон) и/или сложных эфиров (геранилацетат). Сесквитерпеновые соединения в винах (α -кадиол, γ -эвдесмол, фарнезол, неролидол) ассоциируются с древесными, пряными, сладкими, цветочными, и свежими запахами [34].

Основной источник *летучих фенолов* — микробиологическая трансформация дрожжами из гидроксикоричных кислот вина [26]. Низкие содержания летучих фенолов придают молодым красным винам особенный характер выдержки, передавая ароматные ноты специй, дыма и кожи [35].

Нелетучие органические соединения. В нелетучий профиль вин по органическим соединениям входят полифенолы, органические кислоты, аминокислоты и биогенные амины, отвечающие в основном за вкусовые характеристики, кроме того, нелетучая винная матрица влияет на интенсивность одорантов [36].

Полифенолы важные компоненты винограда и вина, влияющие на цвет, терпкость и горечь, участвуют в окислении, во взаимодействии белков и процессах старения вина [37]. Флавоноиды — наиболее важная группа полифенолов в винах — состоят из флавонолов, флаванолов, флавонов, халконов, дубильных веществ и антоцианидинов [38]. Флаванолы встречаются в виде катехина, эпикатехина, эпигаллокатехина и эпикатехин-3-О-галлата в мономерной форме и проантоцианидинов или негидролизуемых танинов в полимерной форме и вносят вклад в цвет, терпкость и горечь вин.

Антоциановые пигменты состоят из антоцианидинов и антоцианов, являются основными водорастворимыми пигментами, присутствующими в окрашенном винограде и красном вине. Наиболее распространенными основными антоцианами являются изомеры дельфинидина, цианидина, петунидина, пеонидина и мальвинидина, находящиеся в гликозилированной и агликозилированной формах, уровни их содержаний колеблются от 90 до 700 мг/л [39].

Витамины и витаминоподобные вещества играют важную роль в формировании органолептических свойств молодого вина. Входят в состав ферментов, катализирующих процессы обмена углеводов, азотистых веществ (аминокислот), жирных кислот (пантотеновая кислота), пуриновых и пиримидиновых оснований (фолиевая кислота) [40].

Аминокислоты представляют основную часть соединений азота в вине (25–30%), являются источником азота и ароматических соединений [41]. В виноградном сусле идентифицированы 32 аминокислоты — нейтральные: глицин, α -аланин, β -аланин, валин, лейцин, изолейцин, серин, треонин; серосодержащие: цистин, цистеин, метионин; двухосновные: аспарагиновая, глутаминовая, γ -аминомасляная кислоты, аспарагин

и глутамин; основные: лизин, аргинин, гистидин; ароматические: фенилаланин, тирозин и гетероциклические: триптофан, пролин, оксипролин [42]. Общее содержание азотистых веществ в ягодах винограда формируют глицин, аргинин, валин, серин, треонин, лизин, фенилаланин, гистидин, тирозин, пролин, глутаминовая кислота и триптофан (от 600 до 2400 мг/л). Большую часть свободных аминокислот суслу составляют пролин, треонин, глутаминовая кислота, α -аланин, аргинин, меньшую — серин, триптофан, глицин, валин, лейцин, аспарагиновая кислота и цистеин. Аминокислоты, прежде всего незаменимые (валин, лейцин, изолейцин, треонин, метионин, лизин, фенилаланин и триптофан), определяют пищевую ценность белков. В зависимости от технологии переработки винограда аминокислоты могут также образовывать в вине нежелательные соединения — этилкарбамат, биогенные амины и карболины (из триптофана) [43]. Со “сладким” вкусом крабов и других морепродуктов связано наличие аланина, пролина, глицина и аргинина.

ОСОБЕННОСТИ ПОДГОТОВКИ ОБРАЗЦОВ ВИН К ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОМУ АНАЛИЗУ

Лимитирующей стадией хроматографического определения аналитов в вине является подготовка проб к анализу. Широкий диапазон определяемых содержаний аналитов в вине требует разработки индивидуальных или “универсальных” схем подготовки проб для проведения корректного анализа. Сложность пробоподготовки зависит также от класса и свойств определяемых аналитов. При определении одного аналита или органических соединений одного класса на уровне средних их содержаний в вине преимущественно применяют технику разбавления, фильтрации, прямого ввода в хроматограф, методы жидкостно-жидкостной (ЖЖЭ) и/или твердофазной экстракции (ТФЭ). К таковым можно отнести анализы вин и виноматериалов хроматографическими методами, включенными МОБВ в 2023 г. в сборник международных методов анализа вина и суслу [2].

Пробоподготовка образцов вина при определении метанола заключается в дегазации напитка и добавлении внутреннего стандарта, после чего проводится газохроматографический анализ с пламенно-ионизационным детектором (ГХ-ПИД) на капиллярной колонке, покрытой Carbowax 20M (OIV-MA-AS312-03A). Твердофазная экстракция с колонками с октилсвязанным диоксидом кремния и ионообменной смолой применяется при одновременном разделении и определении методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) органических кислот (OIV-MA-AS313-04). ВЭЖХ-определение антоцианов в красном и розовом винах по методике OIV-MA-AS315-11 проводится

без разбавления на колонке с обращенной фазой и УФ-детектированием в видимой области. Прозрачные вина детектируют на приборе непосредственно, а мутные образцы предварительно фильтруют через мембранный фильтр 0.45 мкм. Определение органических кислот в диапазонах концентраций от 0.1 до 20 мг/л методом ионной хроматографии проводят с разбавлением образцов, ионообменные колонки делят большинство органических кислот и анионов, а кондуктометрическому детектированию не мешают фенольные соединения (OIV-MA-AS313-16). Электрофоретическое определение основных органических кислот (винной, яблочной и молочной) вин проводят после дегазации, разбавления и добавления внутреннего стандарта, методика описана в OIV-MA-AS313-19. Определение общего содержания ацетальдегида (свободного и связанного с диоксидом серы) в диапазоне от 0.2 до 80 мг/л в вине по методике OIV-MA-AS313-24 проводят после дериватизации 2,4-динитрофенилгидразином с элюированием методом ВЭЖХ, с детектированием при длине волны 365 нм. Прямым введением образца вина с добавлением внутреннего стандарта в покрытую связанной полярной фазой капиллярную колонку определяют летучие соединения методом ГХ-ПИД по методике OIV-MA-AS315-27. Такую процедуру пробоподготовки применяют также при определении этанола, этилацетата, метанола, бутан-2-ола, 2-метилпропан-1-ола, изоамилацетата, бутан-1-ола, 2-метилбутан-1-ола, 3-метилбутан-1-ола, пропан-1-ола, пентан-1-ола, ацетоина, этиллактата, гексан-1-ола, 3-этоксипропанола, этилоктаноата, фурфуральдегида, (2R,3R)-бутан-2,3-диола, (2R,3S)-бутан-2,3-диола, пропан-1,2-диола, бутиролактона, диэтилсукцината, гексановой кислоты (полуколичественный), 2-фенилэтанола, диэтилмалата, октановой (полуколичественный) и декановой (полуколичественный) кислот. Жидкостно-жидкостная экстракция пропан-1,2-диола и бутан-2,3-диола этиловым эфиром с высаливанием K_2CO_3 из вин проводится для последующего определения методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) на полярной колонке по методике OIV-MA-AS315-28. Определение этилкарбамата в вине по методике OIV-MA-AS315-04 включает введение в образец внутреннего стандарта пропилкарбамата и разбавление водой с последующей твердофазной экстракцией. Этилкарбамат и пропилкарбамат из вин элюируют дихлорметаном, концентрированный на вращающемся испарителе элюат анализируют методом ГХ-МС. После дериватизации *o*-фталевого альдегида, предусмотренной методикой OIV-MA-AS315-18, биогенные амины в винах и виноградном сусле определяют методом ВЭЖХ с флуоресцентным детектором на колонке C_{18} . Подготовка образцов при определении

$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ глицерина (OIV-MA-AS311-09) методом ГХ с масс-спектрометрией изотопных соотношений заключается в фильтрации вин на фильтре с пора-ми 0.2 мкм и разбавлении этанолом в соотношении 1 : 4. Для ВЭЖХ с масс-спектрометрией изотопных соотношений образец вина фильтруют на фильтре с пора-ми 0.2 мкм, затем разбавляют водой.

Анализ литературы показал, что подготовка вин к анализу может осуществляться сочетанием или усовершенствованием методов ЖЖЭ и ТФЭ анали-тов, а также с применением разработанных новых подходов. В последние годы широко применяют методы твердофазной микроэкстракции (ТФМЭ) с использованием волокон с различными покры-тиями для ГХ-МС-идентификации анали-тов на ка-пиллярных колонках с различными стационарны-ми фазами, а также ТФМЭ для концентрирования ЛОС из равновесной паровой фазы для определе-ния летучих компонентов. Газодиффузионная мик-роэкстракция при ВЭЖХ-определении алифатиче-ских аминов в напитках представляется конкурент-носпособной альтернативой существующим подхо-дам, поскольку значительно упрощает подготов-ку проб. Различные примеры использования альтер-нативных схем пробоподготовки вин к анализу в сочетании с хроматографическим определением анали-тов описаны ниже.

ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Методы газовой хроматографии (ГХ) в целом обеспечивают разделение и достоверное определе-ние летучих и относительно летучих компонен-тов в винодельческой продукции. Нелетучие ком-поненты вин могут определяться методами ГХ, ГХ-МС только после их дериватизации, или пред-почтительны методы ВЭЖХ.

Авторы обзора [44] обсудили принципы ор-ганизации исследований по оценке содержаний ЛОС в винах, извлеченных ТФМЭ, с последую-щим ГХ-МС-анализом и обработкой результатов методами многомерного анализа. Особо отмечены достоинства ТФМЭ для эффективной экстракции анали-тов из вин. Акцентируется внимание на уста-новлении оптимальных временных и температур-ных условий для фаз уравнивания и экстраги-рования, выборе подходящей системы концентри-рования экстрагируемых и определяемых веществ. Показано, что доступность волокон с различными адсорбирующими полимерными покрытиями де-лает ТФМЭ универсальным методом, пригодным для извлечения различных классов ЛОС из раз-ных матриц. Отмечается перспективность приме-нения волокон, покрытых полидиметилсилоксан-ом, а в последнее время — комбинаций различ-ных адсорбирующих полимеров на основе поли-винилбензола и карбовакса, пригодных для извле-чения более широкого спектра анали-тов. Большой объем получаемых данных по летучим соединени-

ям с использованием таких схем анализа представ-ляет собой ценное хранилище информации о ком-понентах вин. Особый акцент сделан на важность применения методов многомерного анализа дан-ных (регрессионных моделей и методов распозна-вания образов) для оценки взаимосвязи между ви-ноградарством и виноделием, установления про-филя аромата, подлинности или географическо-го происхождения вина. Представлен анализ при-меняемых для этих целей статистических методов, для каждого анализируются достоинства и недо-статки с упором на критические моменты, связан-ные с обработкой и размером доступного набо-ра данных. Применение методов на основе искус-ственного интеллекта обсуждается как инноваци-онное для оценки подлинности и географической принадлежности сортовых вин [44].

Методы ГХ широко применяются при опреде-лении ЛОС в винах. Например, авторы работы [45] для оценки ароматических профилей образ-цов вин, произведенных путем естественной ферментации, применяли метод твердофазной микроэкстракции-газовой хроматографии/масс-спектрометрии (ТФМЭ-ГХ-МС). Для ТФМЭ анали-тов использовали волокна из полидиметил-силоксана, ГХ-МС-идентификацию проводили на капиллярной колонке со стационарной фазой из полиэтиленгликоля (ПЭГ) с высокой поляр-ностью. Были идентифицированы 38 летучих соединений альдегидов (2), спиртов (7), сложных эфиров (13), кислот (3), терпенов (13).

Авторы работы [46] характеризуют полисахари-ды как важные и сложные макромолекулы, и оцен-ка их влияния на качество вина требует междис-циплинарного подхода. Винные полисахариды вы-деляли из вин осаждением этанолом. Осадки рас-творяли в сверхчистой воде и лиофилизировали для получения общего количества растворимых по-лисахаридов. После их дериватизации определяли аналиты методами ГХ-МС или ВЭЖХ. По резуль-татам определения состава и структурных характе-ристик основных полисахаридов в вине обсужде-ны механизмы их воздействия на структуру и состав матрицы, влияющие на стабилизацию и форми-рование органолептических свойств напитка. Ав-торы пришли к выводу, что для изучения профи-ля и определения винных полисахаридов необхо-димы современные аналитические методы коли-чественной оценки содержания анали-тов, включая эффективные экстракционные способы, это поз-волит энологам регулировать содержание полиса-харидов различными приемами виноделия и улуч-шать качество вина.

В работе [47] предложена методика определе-ния глицерина в виноградном сусле, соке и их кон-центратах на фоне значительного содержания са-харов и органических кислот методом газоадсорб-ционной хроматографии прямым вводом в колонку

с Chromosorb W45 или Chromosorb 101. Предел обнаружения глицерина зависел от методики определения и используемого оборудования, включая колонку, подготовку пробы и т. д. Одними исследователями найдено 1.9% глицерина, а другими — от 4 до 4.39%.

Для определения альдегидов, характеризующих качество и натуральность винных дистиллятов, разработана [48] ГХ-МС-методика определения альдегидов в дистиллятах виноградных выжимок с пределом обнаружения 0.7 нг/л, пределом определения ниже 20 нг/л и погрешностью менее 10%. Исследуемые образцы выжимок разбавляли, дериватизировали *O*-(2,3,4,5,6-пентафторбензил)гидроксиламином, аналиты извлекали ТФМЭ на покрытых двумя неподвижными фазами пленках волокон с различной толщиной: полидиметилсилоксан-дивинилбензол, 65 мкм, и ПЭГ, 60 мкм, затем проводили ГХ-МС-анализ. Аналиты разделяли на капиллярной колонке с неполярной неподвижной фазой, состоящей из 5% бифенила и 95% полидиметилсиласана (HP-5MS). Детектировали в режиме регистрации селективных ионов (SIM) на приборе, оснащем источником электронной ионизации. Методика позволила количественно определить разветвленные альдегиды, алифатические альдегиды, алкены и алкадиены в образцах дистиллятов виноградных выжимок. Удалось идентифицировать двадцать соединений, среди них короткоцепочечные альдегиды, имеющие резкие нотки (пропаналь, бутаналь, альдегиды Стрекера) и длинноцепочечные альдегиды, характеризующиеся запахом жира.

Методами ГХ и ГХ-МС с ТФЭ идентифицированы пять летучих компонентов вина — 3-метил-1-бутанол, 2-фенилэтанол, моноэтилбутандиоат, октановая и гексановая кислоты с пределом обнаружения аналитов 0.01 мг/л [49]. ЛОС вина концентрировали на Porapak Q, извлекали дихлорметаном и анализировали вина Кьянти Классико и Рислинг-Сильванер методом ГХ-МС с использованием источника электронной ионизации в режиме SIM на 30-метровой колонке. С помощью колонки HP-5MS идентифицировали 2,4,6-триброманизол, который дает “затхлый или закупоренный” запах при дегустации вина. Пробоподготовка включала трехкратную жидкостную экстракцию аналита пентанэтилацетатом и обработку экстракта NaOH для удаления кислых мешающих компонентов. Затем органическую фазу после концентрирования анализировали. Изучены пороги восприятия и условия загрязнения 2,4,6-триброманизолом вина в процессе виноделия, хранения и выдержки в бутылках. “Затхлый” запах ощущался в вине при концентрации 2,4,6-триброманизола 4 нг/л [50].

Авторы работы [51] предложили технику анализа аромата вина прямой инъекцией пробы в га-

зовый хроматограф без предварительной экстракции аналита на капиллярной колонке с неподвижной жидкой фазой, состоящей из нитротерефталевой кислоты с пришитыми полиэтиленгликолями с использованием программируемого температурного испарителя-инжектора. Такая процедура не требует применения растворителя и возможно проведение быстрого скрининга. Однако для обеспечения стабильности и работоспособности хроматографов желательна предварительная обработка анализируемых образцов сорбционными материалами или применение ТФЭ.

На примере данных элементного анализа, ГХ-определения спиртов, общего содержания кислот, сухих веществ и золы авторы работы [52] методами распознавания образов классифицировали по химическому составу 49 образцов немецких белых вин Рейнского и Мозельского 1970 и 1971 гг. производства. Визуальный анализ данных не позволил авторам выявить признаки их дифференциации. С использованием методов классификационного анализа стало возможным разделение вин по годам урожая и винодельческим регионам. Классификация вин по соотношениям их химических свойств оказалась более информативной, чем по значениям индивидуальных показателей.

Относительно высокая стоимость оценки подлинности ледяного вина становится актуальной проблемой в виноделии. Разработана [53] методика нецелевого анализа ледяного вина для определения летучих и полуметучих компонентов различных классов. Для хроматографического разделения и идентификации аналитов использована комбинация автоматизированного метода ТФМЭ-ГХ-МС. Для паровозной ТФМЭ соединений из образцов ледяного вина использовали волокно с дивинилбензол/карбоксен/полидиметилсилоксаном (50/30 мкм). После инкубации и экстракции образца аналиты термически десорбировали в инжектор хроматографа в течение 2 мин при 260°C и переносили в колонку. Масс-спектрометр был оснащен времяпролетным анализатором с максимальной скоростью сбора данных 500 спектров/с. Разделение аналитов проводили на капиллярной колонке с неподвижной фазой 5% фенил-95% диметилполисилоксана. Полный ионный ток в диапазоне m/z 35–450 сканировали в течение 5 мин. Целевые соединения идентифицировали методом линейного температурно-программируемого индекса удерживания загруженных на волокно алканов C_8 – C_{20} и поиском в библиотеке масс-спектров. При разработке методики использованы в качестве стандартных образцов 17 соединений с различными временами удерживания, охватывающими компоненты различной полярности и летучести, отобранные по всей хроматограмме тестируемого (эталонного) ледяного вина.

Относительное стандартное отклонение при $n = 7$ оптимизированного метода анализа вина колебалось от 3.2% по β -дамасценону до 9.0% по γ -бутиролактону для всех соединений. Повторяемость значений индекса удерживания зондов и времен удерживания целевых аналитов лежала в диапазоне 0.1–0.56%.

ЛОС и обонятельные профили сухих красных вин сорта Мерло из восточного предгорья горы Хелан изучали методом газовой хроматографии-офлактометрии/масс-спектрометрии и количественным описательным анализом [54]. Девятнадцать ЛОС были установлены как незаменимые, влияющие на ароматические характеристики вина. На волокне с дивинилбензол/карбоксен/полидиметилсилоксаном проводили ТФМЭ ароматических веществ с последующим ГХ-МС-определением на капиллярной колонке из плавленого кварца в режиме полного сканирования (m/z 35–300) с источником электронной ионизации с температурой источника 230°C.

По концентрациям металлов и ЛОС в 87 образцах сухих красных вин — Каберне, Мерло, Пинонуар, а также белых вин — Рислинг, Шардоне и Совиньон Блан российского производства регрессионным анализом оценили вклад металлов и летучих соединений в среднее значение выставленных экспертами сенсорных оценок [55]. Органолептические характеристики ЛОС в красных винах были в два выше соответствующего вклада металлов, а в белых — в три раза. Изменчивость сенсорной оценки красных вин, обусловленная содержаниями металлов и ЛОС, оказалась сопоставимой, а вклад летучих соединений в сенсорные характеристики белых вин оказался более значимым. Построенные прогностические модели рекомендуются к использованию для оценки сенсорных свойств красных и белых вин по концентрациям ЛОС и металлов.

Эффективность ТФМЭ с применением четырех волокон — полидиметилсилоксана, дивинилбензола, карбоксена, а также полидиметилсилоксан/дивинилбензол/карбоксена оценена при определении ЛОС в белом и красном вине [56]. Волокно с полидиметилсилоксан/дивинилбензол/карбоксеном оказалось более подходящим для получения информативного летучего профиля вин. Лучшие условия экстракции аналитов достигались за 40 мин при 35°C. Проанализировано белое вино, созданное из традиционных белых сортов винограда и выдержанное в дубовых бочках. Хроматографический анализ вин проводили на капиллярной колонке с ГХ-ПВД. ЛОС идентифицировали сравнением времен их удерживания с временами удерживания стандартов. Удовлетворительные данные по воспроизводимости получены для 40 ЛОС белого вина.

Авторы работы [57] изучили активные ароматические компоненты вина Шираз после их ТФМЭ с различными типами волокон с газохроматографической офлактометрией и криогенной ловушкой. Использовали ГХ-ПВД, оснащенный обонятельным портом. ЛОС разделяли на капиллярной колонке со стационарной фазой ПЭГ с высокой полярностью и высокими верхними температурными пределами. Во время анализа данных газохроматографической офлактометрией пики аромата, обнаруженные тремя или более экспертами, считались значимыми сильными одорантами. Соединения идентифицировали методом ГХ-МС в режиме электронной ионизации при 230°C. Данные масс-спектров обрабатывали с использованием программы автоматизированной системы масс-спектральной деконволюции и идентификации (AMDIS), а также библиотеки NIST MS версии 2.0f. Многокомпонентность и принадлежность ЛОС в образцах вин к различным классам показали необходимость более эффективного и/или улучшенного способа их разделения. Авторы акцентировали также внимание на целесообразности развития многомерного хроматографического разделения с подходами деконволюции для более полной и однозначной идентификации соединений, ответственных за аромат вина.

Перспективность применения многомерной ГХ для изучения биологического кислотопоножения и определения молочной кислоты в вине продемонстрирована в работе [58]. Исследования проводились с винами, приготовленными на винодельне в регионе Дао (Северная Португалия). Изменения структуры аромата вина в период малолактической ферментации изучали методами многомерной хроматографии. Для энантиоселективного ГХ-анализа использовали оригинальную капиллярную колонку, покрытую пленкой толщиной 0.25 мкм 15% гептакис(2,3-ди-О-метил-6-О-трет-бутилдиметилсилил)- β -циклодекстрина. Энантиомногомерный ГХ-МС/МС-анализ проводили на газовом хроматографе с детектором — ионной ловушкой, соединенной с основной колонкой линией передачи с открытым разделенным интерфейсом. Контролировали изменения энантиомерного соотношения хиральных соединений во время малолактической ферментации, которые ранее для этой стадии не изучались. Все стереоизомеры (бутан-2,3-диол, а также впервые обнаруженные в винах мезо-бутан-2,3-диол и пентан-2,4-диол) имели разные сенсорные нотки, а пентан-2,4-диол показал ароматическое воздействие.

По мнению авторов обзора [59], любое вино содержит сотни летучих соединений, но только небольшая часть ЛОС активно способствует формированию аромата. Исходя из этого посыла, разработаны сравнительно быстрые и простые ме-

тоды ГХ-МС-определения ключевых компонентов с использованием целевого аналитического подхода. В обзоре обсуждаются ценность, возможности и трудности, связанные с оценкой вклада химических соединений в аромат и вкус вина, установление взаимосвязи между органолептическими свойствами вина и составом ЛОС по результатам, полученным методом количественной газовой хроматографии-ольфактометрии.

Для экстракции и последующего ГХ-определения ЛОС в белых и красных винах предложено использовать безводный сульфат магния [60]. Спиртово-глицериновый слой с ароматическими соединениями отделяли дегидратацией с $MgSO_4$. Степени экстракции аналитов составляли от 75 до 120%, за исключением 2-фенилэтанола и γ -бутиролактона, извлечение которых из красных вин было ниже 60%, и моноэтилсукцината — в среднем 50 и 60% из белых и красных вин соответственно. ГХ-МС-анализ проводили на капиллярной колонке с пришитыми полиэтиленгликолями (WAX) с использованием источника электронной ионизации в режиме SIM в диапазоне от 40 до 300 а.е.м. Аналиты определяли в режиме мониторинга выбранных ионов. Значения пределов обнаружения и определения оказались ниже 0.05 мг/л. Соединения идентифицировали сравнением их относительного времени удерживания и массовой фрагментации с компьютерным сопоставлением с библиотечными данными, а также масс-спектрами, полученными из домашней библиотеки эталонных веществ. Разработанная экстракционная методика позволяет быстро определять летучие вещества в белых и красных винах.

Авторы работы [61] предложили быстрый и простой метод определения α - и β -туионов в алкогольных напитках с ТФЭ с последующим ГХ-детектированием. Разработанная методика характеризуется высокой степенью извлечения аналитов (свыше 98%), низким пределом обнаружения 0.033 мг/л и высокой точностью определения (погрешность менее 1.8%).

Разработан [62] метод автоматической паровозной экстракции в трубке для определения ацетальдегида, этилацетата, диацетила и других летучих соединений в вине и пиве. Метод с высокой точностью обеспечивает количественный перенос летучих соединений из пробы в ловушку паровозной экстракции. Изучены различные способы ТФЭ аналитов из анализируемых объектов. Показано, что стандартный сорбент легко насыщается парами этанола, не обеспечивает количественное восстановление аналитов, присутствующих в пробе. Смолы со средней полярностью оказались достаточно эффективными для восстановления, но при этом необходим учет различных методологических аспектов (разбавление образцов, объемы образцов

и др.), которые должны тщательно контролироваться. ГХ-МС-анализ вин проводили на капиллярной колонке с пришитыми полиэтиленгликолями (WAX), масс-спектрометрическое детектирование осуществлялось в режиме электронной ионизации. Метод применим для определения ацетальдегида, диацетила, этилацетата и других легколетучих соединений в диапазоне от 0.01 до 0.1 мг/л с воспроизводимостью 10%.

Аромат вина — важный показатель качества и может быть связан с характеристиками исходного сырья, а также с особенностями производственного процесса. Методом двумерной газовой хроматографии с времяпролетным масс-спектрометрическим детектированием авторы работы [63] идентифицировали 334 летучих соединения в бразильских винах Мерло — сложные эфиры (94), спирты (80), кетоны (29), кислоты (29), альдегиды (23), терпены (23), лактоны (16), фураны (14), соединения серы (9), фенолы (7), пирролы (5), C13-ноизопреноиды (3), пираны (2). Анализ проводили с использованием полярных колонок (полиэтиленгликоль)/среднеполярных колонок (50% фенил 50% диметилариленилсилоксан). Статистическими методами проведена дифференциация вин Мерло и вин из других сортов винограда, позволившая установить различие по содержаниям этилдодеканоата, гексан-1-ола, этилнаноата, этилгексаноата, этилдеканата, дегидро-2-метил-3(2H)тиофенона, 3-метилбутановой кислоты, этилтетрадеканоата, метилоктаноата, бутан-1,4-диола и 6-метил-1-октанола.

Проведена [64] комплексная оценка 18 отобранных коммерческих ледяных вин с различной интенсивностью аромата, подвергнутых органолептическому описательному анализу, и результатов определения в них 79 ЛОС — этиловых эфиров, ацетатных эфиров, жирных кислот, спиртов, монотерпенов и ноизопреноидов. Определение проводили методом ТФМЭ-ГХ-МС. ТФМЭ аналитов проводили волокном, покрытым дивинилбензолом/карбоксеном/полидиметилсилоксаном. Для ГХ-МС-анализа использовали капиллярную колонку с пришитыми полиэтиленгликолями (INNOWAX). Фураноны, *n*-алкилалконы, летучие вещества дуба и 3-меркаптогексанол концентрировали ТФЭ и определяли методом ГХ-МС/МС. Анализ проводили на неполярной капиллярной колонке HP-5MS, подходящей для определения следовых количеств кислых и основных соединений. Идентифицированные компоненты использовали для исследования характерных ароматов, в которых композиционные различия между винами сопоставляли с сенсорными характеристиками. Методом наименьших квадратов установили, что некоторые высшие спирты, лактоны, сложные эфиры, терпены, фуранол и гомофуранеол положительно коррелируют с “медовым” ароматом,

а сотолон, лактоны, β -дамасценон и полученные из дуба летучие вещества положительно связаны с ароматами “карамель” и “сухофрукты”. Исследования по восстановлению аромата подтвердили, что терпены, включая β -линалоол, *цис*-/*транс*-оксид розы, β -цитронеллол и нерол, могут значительно усиливать “медовый”, “цветочный” и “персиковый/абрикосовый” ароматы, но ослаблять “карамельный” аромат.

В обзоре [65] анализируются возможности различных вариантов ТФМЭ-ГХ-МС, используемых для определения летучих веществ, формирующих вкусовые и ароматические свойства винограда и вина. Обсуждаются способы ТФМЭ волокон с полидиметилсилоксан/дивинилбензолом для определения нескольких классов аналитов без растворителя, позволяющие разрабатывать высокочувствительные методики количественного определения. Для ГХ-МС-анализа исследуемых объектов применяли методы электронной и химической (как в положительном, так и отрицательном режиме) ионизации. Отмечено, что с увеличением спектра доступных стандартных образцов разрабатываются новые приложения ТФМЭ-ГХ-МС и методы определения профиля определенных классов соединений виноградного аромата (терпены, ноизопреноиды и др.) и вкуса могут найти широкое применение на практике.

С использованием планирования экспериментов с окончательным планом скрининга и методологии поверхности отклика предложен метод ТФМЭ в свободном пространстве для определения летучих компонентов вин [66]. В оптимизированных условиях проводили анализ 70 образцов вина из 6 моносортовых греческих сортов белого и красного вина с защищенным наименованием происхождения и защищенным географическим указанием. Идентифицированы и определены (полуколичественно) 100 летучих метаболитов в широком диапазоне концентраций в зависимости от сорта. Жирные кислоты и соответствующие им этиловые эфиры найдены в белых винах в более высоких концентрациях, а высшие спирты — в красных винах. С применением многомерного статистического анализа оценены различия между сортами вин. Выявлены характерные для классификации вин вещества-маркеры — изоамиловый спирт, терпеновые соединения (Хо-триенол, оксид нерола, мирценол и альфа-терпинеол).

Содержание летучих компонентов в винах из старых лоз Шенен Блан в Южной Африке оценено методом комплексной двумерной ГХ [67]. Аналиты извлекали ТФМЭ, а для их идентификации применяли высокоскоростную времяпролетную МС с высоким разрешением. Методом главных компонент (РСА) проведена дифференциация данных идентифицированных 277 соединений в винах, которая показала, что ре-

зультаты исследований сложно связать с методами виноделия (выдержка вина в контакте с древесиной дуба) или происхождением винограда.

Авторы работы [68] сравнили возможности определения летучих и полунлетучих веществ методом комплексной двумерной ГХ с детектированием методом масс-спектрометрии высокого разрешения с различными схемами ТФЭ в трех молодых южноафриканских красных винах. Полученные ранее результаты ТФМЭ в свободном пространстве показали, что не все важные ЛОС вина извлекаются по этой методике. ТФЭ с обращенно-фазовым материалом позволяет удалить многие полярные ЛОС, присутствующие в относительно высоких концентрациях, из матрицы образца, а после их удаления расширяется спектр определяемых неполярных высококипящих одорантов. С использованием предложенного способа пробоподготовки число идентифицированных сложных эфиров увеличилось с 42 до 80, карбонильных соединений — с 38 до 42, ацеталей — с 6 до 10 и т. д. Идентифицированы 214 соединений из различных классов ЛОС — эфиры, спирты, альдегиды и кетоны, кислоты, ацетали, фураны и лактоны, серо- и азотсодержащие соединения, терпены и летучие фенолы. Методика определения терпенов, лактонов и летучих фенолов оказалась полезной, позволяющей установить многочисленные ЛОС в винах Пино-таж.

В работе [69] изучены дифференцирующие профили ЛОС крепленых вин Испании с защищенным наименованием по происхождению, идентифицированные после ТФМЭ в свободном пространстве, ГХ-МС-определения и хеометрической обработки данных. Из идентифицированных 345 летучих соединений 28 выделены для дифференциации профилей между биологическим, окислительным или смешанным типами выдержки. Специфические эфиры и метионол отнесены к биологическому типу старения, более высокие содержания бензальдегида, наоля, фурфурола, этилпирувата, диэтилмалата — к окислительному, а лактоны — к смешанному.

Значение активности запаха использовали для выявления различий между выдержанными традиционными, а также альтернативными технологиями получения вин [70]. ЛОС в винах, полученных при выдержке в бочках, дубовой щепе и клепках, определяли методом сорбционно-экстракционной ГХ-МС. Анализ данных методами РСА, ортогональных проекций на латентные структуры (ОPLC) и кластерный анализ позволил выявить различие между красными винами по времени их выдержки. Спирты, эфиры и соединения дуба вносят основной вклад в аромат, их значения активности запаха выше в образцах клепок через три месяца, чем в образцах из двух других систем выдержки.

ЛОС в девяти моносортных винах из сортов винограда Корвина, Корвиноне, Рондинелла, Молинара, Оселета, Рабосо, Хорватина, Санджовезе и Каберне-Совиньон определяли [71] ТФЭ-аналитов на сорбенте со средней полярностью и слабым катионообменником с последующим ГХ-МС-анализом с разделением на капиллярной колонке с пришитыми полиэтиленгликолями (WAX). Масс-спектрометр работал в режиме электронной ионизации при 70 эВ с температурой источника ионов 250°C, масс-спектры получали в режиме сканирования. Определены 46 ЛОС в образцах вин, включая спирты, C₆-соединения, сложные эфиры, терпены и изопреноиды, кислоты и бензоиды. В винах из Корвины наблюдали повышенные содержания монотерпенолов — линалоола, α-терпинеола и гераниола, а также C₆-спиртов. Относительно высокие уровни монотерпеновых спиртов обнаружены в винах Корвиноне, а в Оселета наблюдали максимум концентрации терпинен-4-ола, а также *цис*- и *транс*-изомеров оксида линалоола. Ароматическая оценка вин показала более высокие значения для “цветочной”, “фруктовой” и “спелой фруктовой” серии для вин Корвина и Корвиноне. Между разными сортами вина наблюдали серьезные различия в фенольном составе.

Роль ГХ и ольфактометрии в оценке аромата вина обсуждена в обзоре [72]. Использование ольфактометрии в сочетании с методами многомерного анализа с применением одномерной и двумерной газовой хроматографии позволило идентифицировать низкие содержания соединений и выявить вещества, играющие важную роль в формировании аромата вина [72]. Комплексная двумерная газовая хроматография с ольфактометрическим обнаружением позволила проводить целевой анализ вин в случаях, когда несколько фракций содержат все пахнущие соединения, а также выявить микрокомпоненты, отвечающие за аромат вина — изомеры борнеола, с пределом обнаружения 50 нг/л.

Введением 3-алкил-2-метоксипиразинов, относящихся к классу активирующих запахов и качество вина из сортов винограда Рислинг Рейнский и Каберне Фран, исследовано влияние различных вариантов закрытия и упаковки, а также света и температуры хранения на концентрацию 3-изобутил-2-метоксипиразина, 3-изопропил-2-метоксипиразина и 3-втор-бутил-2-метоксипиразина [72]. Исследования проводили в течение 18 месяцев методом изотопного разбавления с ТФМЭ на волокне с дивинилбензол/карбоксен/полидиметилсилоксан в свободном пространстве и последующим ГХ-МС-анализом с разделением на капиллярной колонке 5MS. Концентрации аналитов во время выдержки бутылок варьировались в зависимости от варианта закрытия/упаковки, при этом наибольшее их снижение

наблюдалось в картонных коробках. Установлены разные скорости деградации сложных эфиров, формирующих аромат вина. Установлено также, что укупорочные и упаковочные материалы часто являются причиной необратимых дефектов вкуса и аромата из-за присутствия в продукте отдельных представителей полихлорфенолов и полихлоранизолов на уровне 0.1 мг/л. При таком контроле рекомендуется использование ТФЭ-пробоподготовки, хотя для этих целей может подойти и жидкостная.

Масс-спектрометрическое исследование отношений стабильных изотопов легких элементов (IRMS/SIRA) применяют для решения прикладных задач по изучению винограда и готовой винодельческой продукции, нормированию показателей качества винодельческой продукции, проведению контрольно-надзорных и экспертных мероприятий, производственной и торговой деятельности, а также оценке соответствия данных с агроклиматическими условиями выращивания винограда и технологическими особенностями его переработки. В работе [74] предложен метод идентификации виноградного сусла сравнением δ¹³C проанализированного экстрагированного сахара методом EA-IRMS со значением для пролина, определенным GC-C-IRMS δ¹³C после экстракции и дериватизации. По мнению авторов, значения δ¹³C и δ¹⁵N пролина можно рассматривать в качестве потенциального географического маркера происхождения виноградного сусла.

ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

ВЭЖХ широко применяют в анализе винодельческой продукции за счет доступности, высокой чувствительности, воспроизводимости и стабильности получаемых результатов при определении широкого спектра органических соединений, особенно труднолетучих. Директивы МОВВ также рекомендуют данный метод для определения карбоновых кислот, красителей, углеводов, аминокислот, консервантов в винах [75].

ВЭЖХ с диодно-матричным (ДМД) и флуоресцентным (ФЛ) детектированием, а также методы статистического анализа применены для оценки содержания фенольных соединений в 16 винах сорта Каберне Совиньон из различных винодельческих районов Балканского региона [76]. Содержание фенольных соединений устанавливали методом ВЭЖХ-ДМД прямым вводом предварительно отфильтрованного через мембранный фильтр образца вина. Идентификацию и определение фенольных соединений проводили по градуировочным графикам с использованием стандартных растворов галловой, кофейной, *n*-кумаровой, феруловой, ванилиновой, сиреневой и эллаговой кислот, (+)-катехина,

процианидина В2, (–)-эпикатехина, эпигаллокатехин галлата, кверцетина, морина, рутина, нарингина, кемферола, лютеолина, апигенина, кверцетин-3-глюкозида, мальвидин-3-глюкозида и цианидин-3-глюкозида. Общее содержание гидроксикоричных кислот оказалось максимальным в винах из винодельческого субрегиона Жупа, Сербия (43–45 мг/л), общих флавоноидов (флаван-3-олов, флавонолов, флавонов и флаванонов) в вине из субрегиона Катажина Эстейт, Болгария (167 мг/л), а общих антоцианов в вине из субрегиона Шумадия, Сербия (1463 мг/л). Кластерный анализ данных показал, что содержание фенольных соединений в винах Каберне Совиньон зависит от агроклиматических факторов, энологической практики на различных винодельнях и вегетационного периода в исследованных балканских регионах. Районы в балканских регионах со схожими агроклиматическими характеристиками показали близкое расстояние кластеризации, указывающее на схожий профиль фенольных соединений в протестированных красных винах.

Фенольный состав и антиоксидантную активность вина и ферментированных выжимок из винограда Каберне Совиньон, собранного на трех стадиях созревания, оценивали методом ВЭЖХ-МС/МС по содержаниям катехина, эпикатехина, кверцетина, а также *n*-кумаровой, галловой и сиреневой кислот [77]. Разделение осуществляли в режиме обращенно-фазовой жидкостной хроматографии на сорбенте C_{18} . Фенольные соединения идентифицировали сравнением их времен удерживания и масс-спектров (режим MRM) с соответствующими стандартами. Вино и ферментированные выжимки получали после длительной мацерации при спонтанном и инокулированном брожении полностью созревшего винограда. При сравнении компонентного состава вина и ферментированных выжимок, полученных из сорта Везезонского, полностью спелого и перезрелого винограда, установили, что наибольшее содержание катехина имеется в вине (40.13 ± 3.25 мг/л), а в ферментированных выжимках — кверцетина (10.96 ± 0.14 мг/кг). Наблюдали снижение концентрации фенольных соединений в вине, произведенном из пораженного *Botrytis Cinerea* винограда, особенно по кверцетину.

Метод ВЭЖХ-УФ-МС применили для установления фенольного профиля для сортовой дискриминации пяти греческих сортов красного винограда [78]. Девяносто образцов винограда сезонов 2017 и 2018 гг. проанализировали после экстракции аналитов органическими растворителями. Проантоцианидиновый профиль флаван-3-олов определяли как в кожуре, так и в семенах, а антоцианиновый профиль устанавливали только в экстрактах кожуры. Достоверные различия в профилях проантоцианидина и антоцианина между об-

разцами разных сортов наблюдали для экстрактов из кожуры. Мальвидин-3-О-глюкозид — преобладающий пигмент во всех проанализированных образцах винограда, за исключением экстрактов из кожуры Коцифали, где пеонидин-3-О-глюкозид оказался наиболее распространенным антоцианом. Экстракты из кожуры Мавротрагано богаче дельфинидином и петунидин-3-О-глюкозидами, а Агиоргитико и Ксиномавро содержали максимум мальвидин-3-О-глюкозида.

Возможности методов ГХ-МС, ВЭЖХ-МС, ИК-, УФ-, ЯМР-спектроскопии и МС с индуктивно связанной плазмой в сочетании с хеометрической обработкой данных для изучения эволюции полифенолов в процессе формирования и созревания красного вина обсуждены в обзоре [79]. Анализируются превращения полифенолов красных вин, связанные с виноделием и хранением. Показана возможность применения полифенольных образов красных вин в качестве инструмента для отслеживания и аутентичности напитка. Отмечено, что стадия сбора урожая, температура, продолжительность мацерации-брожения и способ винификации входят в число приоритетных влияющих на качество получаемого продукта факторов.

Классификация по полифенольному профилированию вин по данным ВЭЖХ-УФ-МС/МС-анализа с хеометрической обработкой данных предложена в работе [80]. ВЭЖХ-УФ-МС/МС-анализ вин проводился в обращенно-фазовом режиме для определения полифенолов. Количественная обработка данных методами РСА и дискриминантного анализа позволила выявить основные закономерности, открывающие новые возможности для установления по полифенольным профилям качества винодельческой продукции.

Для оценки дескрипторов качества вин предложен быстрый метод определения жирных кислот путем их дериватизации дансилхлоридом с последующим детектированием проточно-инжекционным методом с tandemной масс-спектрометрией [81]. Аналиты определяли методом множественного мониторинга реакций гибридным масс-спектрометром с тройным квадруполом/линейной ионной ловушкой. Источником ионизации служил электроспрей в положительном режиме. Идентифицированы путресцин, этаноламин, гистамин и тирамин. Содержание аналитов зависит от методов виноделия, причем яблочно-молочная ферментация — это важный этап винификации. Найденные в пробах концентрации аналитов не превышали 10 мг/л, поэтому их потребление не представляет особого беспокойства с точки зрения здоровья. Предлагаемый метод позволяет проводить быстрый скрининг данного семейства биологически активных соединений в винах для оценки качества.

Весьма перспективным представляется применение ВЭЖХ-МС/МС для фитохимического исследования фенольных компонентов белого и красного сортов винограда Серсисал и Тинта Негра на разных стадиях созревания [82]. Фенольные соединения определяли в системе ВЭЖХ-ДМД, оснащенной колонкой C_{18} . Обнаружение аналитов с помощью ДМД проводили сканированием в диапазоне от 210 до 520 нм с разрешением 1.2 нм. Идентифицированы 40 фенольных соединений — три гидроксibenзойные и восемь гидроксикоричных кислот, четыре флаванолы, пять флавононов, восемь флавонолов, четыре стильбена и восемь антоцианинов. Десять фенольных соединений (протокатеховая кислота-глюкозид, *n*-гидроксibenзоилглюкозид, ваниллоилпентозид каftarовой кислоты, *n*-кумаровая кислота-эритрозид, производное гексозы нарингенина, эриодиктиол-глюкозид, таксифолин-пентозид, кверцетин-глюкуронид-глюкозид, малилированный кемпферол-глюкозид и димер ресвератрола (рестризол)) были идентифицированы впервые в винограде *Vitis vinifera* L. Содержания этих соединений в сорте Серсисал в зрелом состоянии составляли 40% фенольного состава, а в Тинта Негра — 0.8%. Преобладающие классы фенольных соединений в сорте Серсисал — гидроксикоричные кислоты и флавонолы (около 80%), а в сорте Тинта Негра содержатся 84% антоцианов.

Влияние нескольких методов экстракции аналитов — ТФЭ, быстрой, доступной и безопасной экстракции (QuEChERS) и дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции (ДЖЖМЭ) изучали для концентрирования мелатонина в винах [83]. ВЭЖХ-ФЛ применили для определения мелатонина в винах и оценки эффективности выхода различными методами экстракции. Идентификацию и определение мелатонина проводили на колонке с хромасилом. Наиболее эффективной оказалась ДЖЖМЭ с диспергатором — ацетонитрилом, в качестве растворителя использовали хлороформ для экстракции со степенью экстракции от 95 до 104% и концентрирования мелатонина в восемь раз.

Официальная методика MOVV OIV MAAS-312-06 [2] предусматривает установление подлинности виноградного сусла достаточно трудоемким определением стабильных изотопов углерода $\delta^{13}C$ после ферментации и дистилляции. Альтернативная методика, основанная на изотопном анализе $\delta^{13}C$ основных сахаров виноградного сусла жидкостной хроматографией с масс-спектрометрией изотопных соотношений (LC-IRMS), предложена авторами работы [84], в которой диапазон изменения соотношения изотопов углерода составил от -29.8 до -21.9‰ с корреляцией 0.780. Методика позволяет установить фальсификацию виноградного сусла глюкозой и фруктозой из растений группы C4,

а также установить географическое происхождение напитка.

Методика ВЭЖХ-ДМД-определения антоцианов и антоцианидинов в диком винограде *Vitis sylvestris* Gmelin из Тунджели (Турция), разработанная авторами работы [85], позволила идентифицировать из антоцианов дельфинидин-3-О-глюкозид, цианидин-3-О-глюкозид, пеларгонидин-3-О-глюкозид и мальвидин-3-О-глюкозид. Из антоцианидинов определили дельфинидин, цианидин, пеларгонидин и мальвидин-3-О-глюкозид с максимальным содержанием последнего. Аналиты определяли методом ВЭЖХ-ДМД на колонке с обращенной фазой с защитными картриджами C-18. Идентификацию и количественную оценку аналитов проводили по времени удерживания, площадям пиков и УФ-спектру при 360 и 520 нм с использованием кверцетина и мальвидин-3-О-глюкозида в качестве внешних стандартов.

Методом ВЭЖХ-ДМД идентифицированы и определены антоцианы в ягодах на кончиках и плечах грозди винограда рода *Vitis vinifera* в течение 30 дней до сбора урожая — мальвидин, пеонидин, петунидин, дельфинидин и цианидин, а также флавонолы — кверцетин, мирицетин, кемпферол, ларицитрин и сиренгитин [86]. Антоцианы и флавонолы идентифицировали и определяли на аналитической колонке на основе диоксида кремния с концевыми колпачками с селективностью по C_{18} . Аналиты экстрагировали из ягод смесью метанол—муравьиная кислота—вода (10 : 5 : 85). Концентрация антоцианов в ягодах с плечиков стабилизировалась за 30 дней до сбора урожая, а в ягодах с кончиков продолжала расти. Производные шести флавонолов (кверцетин, мирицетин, кемпферол, ларицитрин, изорамнетин и сирингетин) обнаружены в коже и мякоти внутри кластера. Динамика содержания антоцианов (от 400 до 515 мг/кг в кончиках и от 598 до 574 мг/кг в плечах) и флавонолов (от 19 до 29.3 мг/кг в кончиках и в плечах от 22.7 до 29.4 мг/кг) в период созревания подтвердила рост концентрации полифенолов.

В работе [87] сравнивали содержания антоцианов в образцах ягод винограда пятнадцати сортов Тейнтурье (сорта винограда с красной мякотью), собранных из генного банка, расположенного в Венгрии. Профили антоцианов, экстрагированных отдельно из кожицы и сока, изучены методом ВЭЖХ-ДМД. Структура антоцианов значительно различалась в коже и соке для всех исследованных сортов. У сортов *Vitis vinifera* преобладающим антоцианом в коже был мальвидин-3-О-глюкозид, а основным пигментом сока — пеонидин-3-О-глюкозид. Пигментный состав кожуры оказался сложнее, чем сока. Полученные результаты помогают выбрать подходящие сор-

та Тейнтюрье с нужными антоцианами для пищевых красителей или виноделия.

Разработана [88] экспрессная методика ВЭЖХ-ДМД-определения антоцианов в кожуре красного греческого винограда *Vitis vinifera* L. с пределами определения от 0.20 до 0.60 мг/кг и пределами обнаружения от 0.06 до 0.12 мг/кг. Проанализированы 16 образцов из регионов и официальных ампелографических коллекций Греции, собранных в течение вегетационного периода 2020 г. Среднеквадратичное отклонение внутрисуточных и междневных определений аналитов ниже 6.2 и 8.5% соответственно. Иерархическим кластерным анализом установили заметные различия в содержании антоцианов среди сортов.

Методом ВЭЖХ-ДМД и спектрофотометрическими методами оценены значения антиоксидантной активности колючего винограда *Vitis davidii* Foex в трех красных (Цюньцзы № 1, Цюньцзы № 2 и Ляньтан) и одном белом (Байюй) сортах дикорастущих растений Южного Китая [89]. Сорт Цюньцзы № 1 содержал большее количество фенолов, флавоноидов, флаванолов и антоцианов и проявлял максимальную антиоксидантную активность. Из всех фенольных соединений только (+)-катехин идентифицирован во всех образцах, а из основных фенольных кислот максимальны содержания гидроксилированных кислот.

Авторы работы [90] разработали методику установления полных профилей органических кислот (по содержаниям хинной, глюконовой, шикимовой, гликолевой, уксусной, молочной, муравьиной и галактуроновой кислот) во фруктовых соках и алкогольных напитках с пределами обнаружения 0.5 мг/л методом подавленной ионной хроматографии с использованием нового химически модифицированного сверхразветвленного анионита. Ионно-хроматографические исследования проводили с гидроксидом калия в качестве элюента. Колонку из нержавеющей стали использовали в качестве корпуса для неподвижной фазы и суспензии, набитой под давлением 400 бар.

Метод ВЭЖХ-МС/МС применили для метаболомического профилирования 51 образца красного вина сортов Каберне Совиньон, Мерло и Пино Нуар различного географического происхождения [9]. Хроматографическое разделение проводили на аналитической колонке с обращенной фазой C_{18} . Для поиска наиболее характерных маркеров использовали процедуры автоматического анализа и обработки данных. Соединения идентифицировали с применением автоматизированного алгоритма выделения соединений (признаков) для обработки отдельных данных МС с учетом фона. Изучение структуры данных и построение моделей классификации проводили методами PCA и PLS-DA. Валидированная дискриминантная модель на записанных в режиме поло-

жительной ионизации данных правильно классифицировала 96% образцов вин. Элементную композицию потенциальных маркеров в винах устанавливали сканированием полного ионного тока ионов-прекурсоров. Дополнительную информацию по идентификации получали корреляцией фрагментов, полученных с помощью точных масс-спектров с диссоциацией, индуцированной столкновениями ионов-предшественников.

Сочетание методов ВЭЖХ и спектрометрии позволило изучить сопигментацию (усиления окраски) и антисопигментацию экстрактов винограда [91]. Спектры поглощения экстрактов пигментов регистрировали в диапазоне от 190 до 800 нм. ВЭЖХ-анализ проводили на колонке C_{18} . Элюент контролировали детектором с фотодиодной матрицей при 520 нм для антоцианов и 280 нм для других фенолов. Для оценки эффекта копигментации исследовали вклад различных фракций винограда (кожуры, мякоти и семян) в сортах Шираз, Санджовезе и Пино Нуар. Предложен метод постколоночной реакции, позволивший оценить реакционную способность каждого антоциана винограда в реакциях с реагентами: чистыми соединениями (кверцетин и кофейная кислота) и экстрактами срезов винограда (семена, кожура семильона, мякоть семильона). Некоторые экстракты уменьшали интенсивность цвета, что позволило предположить, что конкурирующие равновесия важны для копигментации и возможна “антикопигментация”. Флавонолы, по-видимому, являются лучшими кофакторами копигментации, а концентрация 3-О-глюкозида кверцетина коррелирует с силой копигментации. Эффект сопигментации характерен для многих компонентов вина и приводит к многочисленным оттенкам, модифицируя способы окраски.

Содержание охратоксина А в продуктах спиртового брожения потенциально опасно для организма человека и может приводить к почечной недостаточности. Мониторинг охратоксина А при алкогольном брожении винного сусла проводили методом ВЭЖХ-ФЛ ($\lambda_{\text{возб}} = 333$ нм, $\lambda_{\text{эм}} = 460$ нм) [92]. Применяли аналитическую колонку с фазой C_{18} , подвижная фаза — смесь ацетонитрил—вода—уксусная кислота (50 : 49 : 1), элюируемая со скоростью 1 мл/мин. Количественную оценку содержания охратоксина А проводили по площади пиков удерживания токсина и градуировочному графику. ВЭЖХ-ФЛ-исследование ферментации охратоксином А показало частичную детоксикацию за счет сорбции на кожуре винограда и минеральных сорбентах при спиртовом брожении.

Особенности определения и идентификации органических кислот в пробах вина обсуждены в обзоре [93]. Проведен анализ данных по органическим кислотам с упором на их присутствие в раз-

личных продуктах питания, включая вина, их свойства и воздействие на организм человека, потенциальные корреляции с другими компонентами вина. Отмечено, что анализируемая матрица, в которой органические кислоты присутствуют, сложна и существенно усложняет анализ. Авторы обзора рекомендуют особое внимание уделять подготовке проб к анализу, сравниваются методы разделения и идентификации с учетом пределов обнаружения и определения, полноты извлечения из анализируемой матрицы, концентрации аналитов, продолжительности анализа. Представлено сравнение методов определения органических кислот, основными из которых являются капиллярный электрофорез или ВЭЖХ.

Предложена [94] методика определения уксусной, муравьиной, лимонной, винной, молочной, яблочной, янтарной, щавелевой и фумаровой кислот в алкогольных и безалкогольных напитках методом обращено-фазовой (ОФ) ВЭЖХ на колонке C_{18} с подвижной фазой 5 мМ Li_2SO_4 при рН 3.00 и скорости 0.5 мл/мин с кондуктометрическим детектированием. Диапазоны определяемых содержаний аналитов составили: для винной, яблочной, молочной, уксусной 5–200 мг/л; для лимонной и фумаровой 2–200 мг/л; для янтарной 10–400 мг/л; 15–400 мг/л для щавелевой и 20–200 мг/л для муравьиной кислот. Пределы обнаружения аналитов составили: 1 мг/л для винной, муравьиной, яблочной и фумаровой; 2 мг/л для молочной, уксусной и лимонной; 5 мг/л для янтарной и 10 мг/л для щавелевой кислот. Продолжительность анализа алкогольных напитков составила 30–40 мин, а относительное стандартное отклонение результатов анализов не превышало 5%.

Профиль уксусной, лимонной, молочной, яблочной, винной и янтарной кислот в 15 винах Пино Нуар с разных виноградников устанавливали методом ВЭЖХ-ДМД [95]. Хроматографическое разделение проводили на колонке C_{18} в режиме изократического разделения с подвижной фазой 20 мМ раствором дигидрофосфата калия при рН 1.6 и скорости потока 0.8 мл/мин. Элюированные соединения идентифицировали сравнением времен удерживания со стандартными образцами. Метод также применили для установления профиля кислот виноградных соков и вин из сортов винограда Бордо, выращенных в долине Напа (Калифорния, США) и Болгери (Тоскана, Италия). Концентрация органических кислот в винах колебалась для винной, молочной и уксусной кислот примерно в 2 раза; для яблочной и лимонной кислот в 3 раза; в 4 раза для янтарной кислоты.

Изучали содержания индивидуальных полифенолов, биогенных аминов и аминокислот их предшественников в винах Вердельо урожаев с 2010 по 2015 гг. с помощью ОФ ВЭЖХ [96]. Фенольные соединения в винах Вердельо иденти-

фицировали методом ВЭЖХ-ДМД на обращено-фазовой колонке сравнением времен удерживания отдельных аутентичных стандартных соединений и УФ-спектров. Биогенные амины и аминокислоты определяли методом с ВЭЖХ-УФ-Вид (с регистрацией светопоглощения в видимой области спектра). Тирамин, гистамин, 2-фенилэтиламин, триптамин и их аминокислоты-предшественники определяли без дериватизации ионно-парной ВЭЖХ на колонке C_{18} с обращенной фазой. Аналиты идентифицировали сравнением времени удерживания аутентичных стандартных соединений и УФ-спектров при 215 нм. Количественную оценку проводили по градуировочным графикам с соответствующими стандартами. Оценивали также общее содержание фенолов, общее количество дубильных веществ и антиоксидантную способность. Идентифицированы двадцать шесть полифенолов, четыре биогенных амина и четыре аминокислоты. В винах Вердельо урожая 2011, 2014 и 2015 гг. найдены самые высокие содержания полифенолов (145 мг/л), аминокислот (52.0 мг/л) и биогенных аминов (7.27 мг/л) соответственно. Методом РСА установлено, что за классификацию вин Вердельо по винтажу отвечают эпикатехин, галловая кислота, фенилэтиламин, гистидин, кафтаровая кислота, фенилаланин, гистамин и кемпферол-3-О-рутинозид.

Качество белых вин Саватиано с защищенным географическим указанием из разных регионов Атики (Греция) оценили по профилям летучих и фенольных соединений методами ГХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС в сочетании с описательным сенсорным анализом [97]. Фенольные компоненты — фенольные кислоты, флавоноиды и стильбены идентифицированы методом ВЭЖХ-МС/МС. Компоненты разделяли в обращено-фазовом режиме с последующей электрораспылительной ионизацией компонентов, аналиты регистрировали в режиме ММР. Фенольные соединения определяли с использованием стандартов. Разделенные по регионам летучие и органолептические характеристики вин подтвердили, что субрегиональные различия, обусловленные главным образом характеристиками почвы, влияют на аромат вина. Вина из восточной части Атики имели более высокое содержание эфиров, терпенов и высших спиртов, а также фруктовые и цветочные характеристики. Вина из северной части Атики имели более высокую интенсивность минеральных, ореховых и травянистых нот. Разделение вин по концентрациям фенольных соединений оказались малообоснованным, но была выявлена связь между содержанием фенольных кислот, флавоноидами и исследуемыми территориями.

Весьма интересным представляется применение метода газодиффузионной микроэкстракции для определения метиламина, диметиламина

и этиламина в сброженных напитках [98]. Метод включает экстракцию аминов газодиффузионной микроэкстракцией и предколоночную дериватизацию аминов фенилизотиоцианатом с последующим ВЭЖХ-УФ-анализом. Метод успешно применен для определения аминов в португальских белых, красных и розовых винах с пределами обнаружения аналитов в диапазоне от 12 до 46 мкг/л, пределами определения от 39 до 153 мкг/л. Метод позиционируется конкурентоспособной альтернативой существующим подходам и значительно упрощает подготовку проб.

Авторы работы [99] описали методику ВЭЖХ-ДМД-определения гистамина, метиламина, этиламина, тирамина, путресцина, кадаверина, фенэтиламина и изоамиламина. Она позволяет проводить легкую дериватизацию вина, определять биогенные амины и обеспечивает полную деградацию избыточных реагентов дериватизацией за счет ОФ-разделения методом ВЭЖХ-УФ-ВИД аминокислот, образующихся в реакции аминокислот с диэтилэтоксиметиленмалонатом. Методика определения биогенных аминов апробирована на реальных образцах вин с долины Роны и предложена МОБВ в качестве эталонной. Предложенная схема предпочтительнее, чем существующие методы до- или постколоночной дериватизации ортофталевым альдегидом по причине меньших затрат на расходные материалы, а аналиты более устойчивы во времени. Методика ВЭЖХ-определения гистамина, тирамина, путресцина, кадаверина и других компонентов в оптимизированных условиях анализа характеризуется пределом обнаружения аналита 0.1 мг/л.

Авторами работы [100] предложено ВЭЖХ-определение маннопротеинов, способствующих улучшению качества различных типов вин. Для удаления дрожжевых клеток и других частиц вина центрифугировали, затем фильтровали через гель-фильтр и одноразовые хроматографические фильтры. После ТФЭ образцы фильтровали через нейлоновые фильтры и анализировали методом ВЭЖХ-УФ-ВИД. Винные полисахариды выделяли методом эксклюзионной хроматографии, проводили кислотный гидролиз с последующим удалением кислоты анионообменной ТФЭ и моносахариды определяли ионно-эксклюзионной ВЭЖХ. По сравнению с известными методиками здесь используются малые объемы образцов, имеется возможность параллельной обработки нескольких проб, отсутствуют стадия осаждения и четкое различие между маннопротеинами и другими винными полисахаридами.

Методами ВЭЖХ-МС/МС и ВЭЖХ-МС с ионизацией электрораспылением определены 26 фенольных соединений в экстракте виноградных выжимок красного винограда *Vitis vinifera* L.

сорта Мальбек — 13 низкомолекулярных полифенолов и 13 антоцианов [101]. Идентифицированы и определены неантоцианы (галловая кислота, тирозол, (+)-катехин, (–)-эпикатехин, кофейная, сиреневая, *n*-кумаровая и феруловая кислоты, полидатын, пикетатанол, транс-ресвератрол, кверцетин-3-глюкозид и кверцетин), нефлавоноиды (гидроксibenзойная и гидроксикоричная кислоты, стильбены), флавоноиды (флавонолы и флавонолы) и другие соединения. Аналиты разделены по времени их элюирования с использованием спектров с чистыми стандартами. Флавоноиды (+)-катехин и (–)-эпикатехин, а также сиреневая кислота оказались наиболее распространенными соединениями в образцах винограда с концентрациями от 1731 до 3387 мкг/г, за ними — галловая кислота, кверцетин и кверцетин-3-глюкозид. Концентрация стильбеновых соединений полидатына и пикетатанола колебалась от 12 до 39 мкг/г соответственно. Из фенольных соединений максимальные концентрации обнаружены у флаванолов — (+)-катехина и (–)-эпикатехина, из антоцианов — мальвидин-3-О-глюкозида. Стильбеновый аналог ресвератрола с более высокой антиоксидантной активностью пикетатанол впервые идентифицирован и определен в экстракте виноградных выжимок сорта Мальбек.

Методом ОФ ВЭЖХ определили содержание органических кислот и углеводов в винах [102]. Анализируемые пробы или их растворы предварительно очищали от мешающих примесей на картриджах для ТФЭ. Для анализа образцов использовали спектрофотометрический и рефрактометрический детекторы и колонку для разделения органических кислот с соответствующей предколоночкой, а также колонки с аминопропильной неподвижной фазой для разделения углеводов с соответствующей предколоночкой. Органические кислоты разделяли в градиентном режиме элюирования. Для градуировки прибора использовали стандартные образцы органических кислот и углеводов. Методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием определяли щавелевую, винную, муравьиную, яблочную, молочную, уксусную, лимонную, янтарную, фумаровую и пропионовую кислоты, а ВЭЖХ с рефрактометрическим детектором — глюкозу, лактозу, мальтозу, маннозу, сахарозу, фруктозу и подсластители (ксилитол и сорбитол). Пределы обнаружения составили 0.05–2.8 мг/л для жидких органических кислот и 4×10^{-5} – 2×10^{-3} мас. % для твердых. Пределы обнаружения углеводов и подсластителей составили 0.1–0.6 г/л для жидких проб и для твердых 0.1–0.6 мас. %.

Работа [103] посвящена разработке методики определения биогенных аминов и свободных аминокислот в сулах, винах и игристых винах методом ВЭЖХ-МС/МС с предколоночной деривати-

зацией аналитов дансилхлоридом. Хроматографическое разделение производных аналитов проводили на обращенно-фазовой колонке C_{18} с предколонкой C_{18} . ВЭЖХ-МС/МС-детектирование использовали для определения содержания аналита в образцах на основе мониторинга множественных реакций. Источник ионов электроспрея использовали в режиме положительных ионов. С использованием регрессионной модели определяли концентрации 22 биогенных аминов и 12 свободных аминокислот. Различия в содержаниях аналитов между изученными сортами винограда Пино Нуар и Ксарелло позволили построить дерево классификации образцов по этим двум признакам.

Хорошо сбалансированный аминокислотный состав игристого вина в процессе выдержки может обогатить вкусовые характеристики и достичь оптимального состояния. Методами ВЭЖХ-МС и ГХ-МС изучена роль аминокислот и летучих ароматических соединений, а также их влияние на вкусовые характеристики и свойства пены белых и розовых игристых вин [104]. Система ГХ-МС включала обонятельный детектор, была оснащена капиллярной колонкой с полиэтиленгликолем высокой полярности и неполярной капиллярной колонкой с широким диапазоном применения и низким уносом неподвижной фазы (5%-фенил 95%-метилполисилоксан). Данные масс-спектрометрии с электронной ионизацией получали в диапазоне масс m/z 35–350 с интервалом 0.2 с в выбранном режиме ионного мониторинга. Ароматические соединения идентифицировали сравнительным анализом времен и индексов удерживания, характеристик аромата и масс-спектров в соответствии со стандартами, доступными в библиотеке масс-спектров NIST 17.0. В образцах вин аминокислоты определяли методом ВЭЖХ-МС. Хроматографическое разделение аналитов достигалось использованием градиента подвижного растворителя. Масс-спектрометрические измерения проводили с источником электрораспылительной ионизации при напряжении 5.5 кВ в режиме множественного мониторинга реакций по характеристическим для аминокислот ионам-продуктам. Основные свободные аминокислоты определяли с использованием внешних стандартов. Содержание аминокислот (кроме пролина) снижалось на 11–23% в обоих игристых винах во времени. Также в обоих образцах вин при выдержке снижалось содержание этилоктаноата, определяющего наибольшую активность по запаху. С увеличением выдержки менялись также связанные с шипучестью вкусовые особенности.

ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫЙ КАПИЛЛЯРНЫЙ ЭЛЕКТРОФОРЕЗ

Капиллярный зонный электрофорез (КЗЭ) является широко используемым методом анализа

вин. Простота в эксплуатации и универсальность позволяют КЗЭ составить альтернативу другим методам разделения, например ВЭЖХ [105]. Объектами КЗЭ можно считать полифенолы, ароматические вторичные метаболиты, повсеместно распространенные в растительном сырье и насчитывающие более 8000 веществ с весьма разнообразной структурой, представляющих семейство биоактивных фитохимических соединений в пищевых продуктах. Тип полифенолов и уровни концентрации в пищевых продуктах зависят не только от исходного сырья, но и от множества параметров, таких как климатические условия, водные ресурсы, площадь выращивания, методы выращивания, управление почвой и степень созревания и т.д. Авторы работы [106] представили обзор методов КЗЭ для анализа вина, которые стали инструментом разделения и идентификации высокополярных соединений, трудно разделяемых ВЭЖХ. Анализируя современное состояние электрофоретического определения природных соединений, авторы работы [106] пришли к выводу, что вино необходимо рассматривать как функциональный продукт питания. Наиболее репрезентативными соединениями вина названы фенольные соединения, аминокислоты, белки, элементарные соединения, микотоксины и органические кислоты.

Быстрое развитие аппаратуры для высокоэффективного капиллярного электрофореза (ВЭКЭ) и появление новых аналитических методик способствовали активному применению метода для определения ионогенных компонентов вина. Возможность ВЭКЭ определять аргинин, треонин и пролин в винах в течение 30 мин с пределом обнаружения 1–5 мг/л без пробоподготовки описана в работе [107]. Исследована подвижность свободных аминокислот в зависимости от состава буферного раствора и pH. Установлен диапазон концентраций аргинина, треонина и пролина, характерный для белых и красных вин, который может служить критерием подлинности. Разработана [108] экспрессная методика определения девяти аминокислот вместе с серотонином в винах и винтажах методом КЗЭ с лазерно-индуцированной флуоресценцией. Разделения аналитов достигли на капилляре из кварца с фоновым электролитом из карбонатного буферного раствора (20 мМ, pH 9.2) с приложением напряжения 20 кВ. Прямую гидродинамическую инъекцию вина проводили после микроволновой дериватизации аналитов 5-(4,6-дихлортриазинил)аминофлуоресцеином, а флуоресценция индуцировалась Ag-ионным лазером 488 нм. Градуировочные функции линейны ($R^2 > 0.9990$) для всех аналитов с пределами обнаружения в диапазоне 7–50 нг/мл.

Структура взаимодействий аминокислот и ЛОС изучена в 150 образцах натуральных сухих красных и белых вин, произведенных в Краснодарском

крае, Россия, в 2010–2013 гг. Методами регрессионного, канонического, ковариационного и факторного анализа, а также РСА проведена сравнительная оценка вклада ЛОС и аминокислот в сенсорные свойства вин [109]. ЛОС и аминокислоты выбраны с учетом их приоритетного вклада в сенсорные свойства вин. Концентрацию ЛОС (ацетальдегид, этилацетат, метанол, общее содержание высших спиртов, уксусная кислота и фурфурол) и аминокислот (аргинин, пролин, треонин) в винах определяли методами ГХ и капиллярного электрофореза. Косвенное определение аргинина, пролина и треонина в образцах вин проводили при 254 нм с бензимидазол-фосфорнокислым электролитом. Образцы вина не разбавляли перед анализом, а разделяющее напряжение составляло 15 кВ с положительной полярностью на инъекционном конце. Аналиты идентифицировали по временам удерживания, а их содержания оценивали по градуировочным графикам. Статистические методы позволили выявить внутри- и межгрупповые корреляции между аминокислотами и ЛОС, а также группами соединений, формирующими сенсорные свойства вин.

Авторы работы [110] предложили способ разделения и методику электрофоретического определения органических кислот (щавелевой, муравьиной, винной, яблочной, лимонной, янтарной, молочной, уксусной, пропионовой, масляной) в винах в кварцевом капилляре с ведущим электролитом. Подготовка напитков к анализу включала фильтрацию и дегазирование, разбавление дистиллированной водой в 50 раз и центрифугирование. Компоненты идентифицировали по совпадению времен миграции кислоты в градуировочной смеси и анализируемом растворе. Диапазон линейности градуировочного графика составлял: для муравьиной кислоты от 1 до 30 мг/л; для всех остальных органических кислот от 1 до 50 мг/л. Использование ведущего электролита состава 5–20 ммоль/л бензойной кислоты, 8–10 ммоль/л диэтаноламина, 0.25–1.0 ммоль/л цетилтриметиламмония бромида и 0.05–0.5 ммоль/л трилона Б (рН 4.95–5.60) позволяло полностью разделить все компоненты за 5 мин и расширило перечень определяемых компонентов — муравьиной, пропионовой и масляной кислот.

Предложена [111] экспрессная методика определения белков в винах методом капиллярного гель-электрофореза. Процедура анализа состояла из пробоподготовки — обработки вина центробежным фильтрующим устройством, денатурации белковой фракции додецилсульфатом натрия и 2-меркаптоэтанола и капиллярного гель-электрофоретического определения белков. Такая процедура позволяет получить данные по молекулярной массе и полуколичественно определить белки в винах за 1 ч. Методика апробирована

при анализе различных вин с Канарских островов; она позволила дифференцировать белки в красном и белом винах с Тенерифе. Показана разница между электрофоретическими профилями по содержанию белка с молекулярной массой более 12 кДа при продолжительности анализа более 15 мин, концентрация которого в красном вине выше, чем в белом.

Новая методика электрофоретического определения свободного диоксида серы с прямым спектрофотометрическим детектированием аналита в ультрафиолетовой и видимой областях спектра в вине и сидре разработана авторами работы [112]. Электрофоретическое разделение аналитов проводили в капилляре 32 см (эффективная длина 22 см) внутренним диаметром 0.05 мм и толщиной пленки 0.05 мкм. Капилляр с покрытием выбрали для ограничения электроосмотического потока и быстрой регистрации отрицательно заряженных ионов. Методика экспрессна (4 мин/инъекция) и характеризуется высокой чувствительностью (предел обнаружения 0.5 мг/л, предел определения 1.6 мг/л) при среднем стандартном отклонении 4.9%.

Массовая концентрация летучих кислот и свободный диоксид серы в 32 винах одновременно определяли полуавтоматическим методом, основанным на перапарации (разделении) в сочетании с онлайн-анализом капиллярным электрофорезом с косвенным УФ-детектированием [113]. Чувствительность и селективность метода выше, чем аналогов с прямым вводом образца: чувствительность выше в два и десять раз для ацетата и сульфита соответственно. Детектирование проводят без разбавления и фильтрации пробы, а открытый капилляр для индивидуального разделения и определения соединений упрощает систему капиллярного электрофореза. Методика позволяет одновременно определять в винах массовую концентрацию летучих кислот и свободный диоксид серы. Для свободного диоксида серы и массовой концентрации летучих кислот пределы обнаружения составили 1.25 и 5.00 мкг/мл, а пределы определения 4.12 и 16.50 мкг/мл соответственно.

Преимущества прямого электрофоретического определения в вине соединений, сложно концентрируемых ТФЭ, продемонстрированы в работе [114]. Авторы предложили метод разделения и определения полифенолов в вине без концентрирования. Система электрофореза оснащена капилляром длиной 43 см (эффективная длина 36.5 см), внутренним диаметром 75 мкм и быстро сканирующим детектором при 190–350 и 350–600 нм, для термостатирования использован блок Пельтье. Аналиты разделяли 25 мМ раствором тетрабората натрия при рН 3.0–3.9, в этих условиях время их миграции было незначительным. Прямой анализ оказался более точным, быстрым и технически более простым и был применен для изучения

образцов вин различного наименования по происхождению, локализованных на Тенерифе (Канарские острова).

Разработана методика электрофоретического определения восьми полифенолов в красных винах из США без применения токсичных органических модификаторов [115]. Для разделения аналитов использовали систему капиллярного электрофореза с детектором на диодной матрице диаметром 55 см × 50 мкм. Для разделения использовали капилляр с эффективной длиной 45 см. Полифенолы хорошо разделялись в капилляре с 40 мМ боратным буферным раствором при напряжении разделения 26 кВ в течение 15 мин при комнатной температуре. Методика определения полифенолов в красных винах валидирована с пределами обнаружения аналитов от 0.15 до 0.32 мкМ и относительными стандартными отклонениями миграции от 0.208 до 0.630%.

Авторы обзора [116] обратили внимание на возможности применения для капиллярного электрофореза микрочипов, предназначенных для определения фенолов, органических кислот, неорганических соединений, альдегидов, сахаров, спиртов и нейроактивных аминов в вине. В работе указана необходимость проведения комплексных исследований по классификации вин с помощью микросистем, а также корреляции данных с методиками ВЭКЭ. Нецелевой анализ вина микрочипами представляется перспективной областью исследований, которые могут обеспечить прогресс в области сортовой дискриминации — важной проблеме винного маркетинга.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИН С ЗАЩИЩЕННЫМ НАИМЕНОВАНИЕМ МЕСТА ПРОИСХОЖДЕНИЯ

В ЕС качественным винам принято присваивать товарные знаки — защищенное обозначение происхождения, обозначение места происхождения, защищенное географическое указание [117]. Вина с защищенным географическим указанием и защищенным наименованием места происхождения стали производить и в Российской Федерации. Национальный стандарт ГОСТ Р 55242-2012 подразделяет их на разные категории [118]. Категория, в которую включены вина защищенных географических указаний и защищенных наименований места происхождения по месту производства, произведенные из винограда одного сорта с определенной вариабельностью по органолептическим качествам, в первую очередь вкусовым характеристикам, вызывает наибольший интерес у потребителей и производителей. Одной из основных причин вкусовой изменчивости вин является разница в условиях произрастания винограда — климатические условия, элементный состав почвы, технология возделывания [119, 120]. С другой стороны,

вина одного сорта могут различаться по вкусовым характеристикам, что может быть вызвано отличием мест произрастания винограда, технологией производства, сроком сбора сырья и т. д. [121, 122]. Когда между винами из разных сортов винограда наблюдаются определенные органолептические сходства — цвет, терпкий, кислый вкус и др., требуется контроль подлинности по их распознаванию как целого на основе анализа “образов” [123–125]. Компонентный состав напитков включает высшие спирты, эфиры, альдегиды, терпены, а также органические кислоты, металлы, аминокислоты, фенольные соединения, сахара и сложные эфиры высших кислот, формирующие букет и потребительские свойства вина [126, 127]. Выбор идентификационных показателей для установления региональной принадлежности вина во многом определяется территорией произрастания винограда, почвенно-климатическими условиями и протекающими на различных стадиях винификации процессами.

Органические профили вин по содержаниям фенольных соединений, аминокислот и ЛОС в основном используют для изучения аспектов безопасности напитка и формирования вкусоароматических характеристик [10, 17, 128–131]. Создание и развитие аналитических методов позволяют идентифицировать большее количество компонентов [132], которые в концентрациях выше порога их сенсорной чувствительности могут влиять на формирование аромата вина [133]. Приведенное в настоящем обзоре ретроисследование, в котором профиль летучих соединений рассматривается как возможный маркер подлинности, датируется 1995 г. В работе [134] дифференцированы испанские вина по географическому происхождению и сорту, по содержанию в них более ста летучих соединений. С другой стороны, спектр ЛОС в вине зависит от сорта винограда, определение конкретного ароматического соединения является достаточно сложной задачей [135]. На полифенольный состав вин существенно влияют генетические факторы и факторы окружающей среды, но наибольший вклад вносят технологии винофикации [136]. По этой причине аутентификация вин по полифенольному составу используется в большинстве случаев только как вспомогательный метод [136]. Аминокислотный профиль вин также зависит от многих факторов (климатических условий, времени мацерации, алкогольного брожения и т. д.), поэтому его использование в качестве маркера соответствия также проблематично [135]. Свободные аминокислоты в вине могут характеризовать его сорт и в сочетании с другими соединениями выступать в качестве переменных в многофакторном анализе при их идентификации [137].

Представленный анализ литературы указывает на формирование тенденции использования дан-

ных по компонентному составу для идентификации вин по сортовому и региональному признаку с применением методов статистического анализа (табл. 1). Статистический анализ в представлен-

ных работах проводят методами PCA, дискриминантного и кластерного анализа. Они применимы при оценке профилей конкретных классов органических соединений (ЛОС, фенольных, аминокис-

Таблица 1. Исследования и аналитические методы для подтверждения географического и сортового происхождения вин на основе определения их органических профилей

Место происхождения (число образцов)	Определяемые характеристики	Метод анализа	Метод обработки данных	Идентификационный признак	Литература
Румыния (22)	Фенолы	ВЭЖХ-МС	PCA	Регион, сорт	[141]
Испания (23)	Полифенолы	ВЭЖХ	PCA, корреляционный анализ	Сорт	[142]
Италия (91)	Флавонолы, антоцианы	ВЭЖХ-ДАД-МС	PCA и кластерный анализ	Сорт	[143]
Уругвай (8)	Антоцианы	ВЭЖХ-УФ/Вид	Дискриминантный анализ	Сорт	[144]
Греция (35)	Кислоты, стильбены	ВЭЖХ-УФ/Вид	Дискриминантный анализ	Регион, сорт	[145]
Австрия (22)	Полифенолы	ВЭЖХ-МС	Дискриминантный анализ	Регион, сорт	[146]
Чили (248)	Флавонолы	ВЭЖХ-УФ-МС	Дискриминантный анализ и PCA	Сорт	[147]
Испания (90)	Полифенолы	ВЭЖХ-МС	PCA, PLS-DA	Регион	[148]
Аргентина (26)	Антоцианы	ВЭЖХ-МС	PLS	Регион, сорт	[149]
Турция (111)	Фенолы	ВЭЖХ	PLS-DA	Сорт	[150]
Канада (44)	Фенолы	УВЭЖХ-QToF-МС	One-way ANOVA	Сорт	[151]
Испания (22)	Спирты, кислоты, сложные эфиры, терпены, альдегиды, ацетоны	ГХ-МС	PCA, SIMCA	Регион, сорт	[134]
Испания (52)	Спирты, кислоты, сложные эфиры, альдегиды	ГХ-МС	Дискриминантный анализ	Сорт	[152]
Италия (93)	Терпены, спирты, ноизопреноиды	ГХ-МС	Дискриминантный анализ	Сорт	[153]
Южная Африка (334)	Спирты, эфиры, кислоты, альдегиды	ГХ-МС	ANOVA, PCA, дискриминантный, факторный	Регион, сорт	[154]
Бразилия (54)	Спирты, кислоты, альдегиды, сложные эфиры, кетоны, терпены, пираны, лактоны, фураны, соединения серы, ноизопреноиды.	HS-SPME в сочетании с GC×GC/TOFMS	Дискриминантный анализ и PCA	Сорт	[155]
Словакия (26)	Терпены, сложные эфиры, спирты	ГХ-МС	ANOVA и нейронные сети	Регион, сорт	[156]

лотных и др.) [63, 67, 69]. С привлечением современных хроматографических методов в последние годы идентифицированы и определены новые соединения, вносящие значительный вклад в потребительские свойства вин. При этом для установления сортовой и региональной принадлежности вин по основным классам органических соединений требуется расширение возможностей получения и обработки более значимого объема данных и информации по концентрациям веществ, которые должны помочь в оценке сложности и особенностей формирования потребительских свойств вин. Для построения прогностических моделей, учитывающих взаимосвязи основных классов органических соединений, требуются современные инструменты анализа данных, например среды программирования R [138], машинное обучение и нейронные сети [139, 140].

* * *

Хроматографические методы имеют заслуженный приоритет при установлении качественного и количественного компонентного состава вина, в первую очередь органического происхождения. Информативность и универсальность хроматографических методов и гибридных аппаратных решений позволяют успешно применять их для оценки качества вина, вплоть до установления его происхождения. Связанные с виноделием и аутентификацией винодельческой продукции вопросы имеют важное значение не только для исследователей, контролирующих органов, но и для потребителей. Качество винодельческой продукции включает пищевую ценность, безопасность потребления, отсутствие изменений и фальсификаций, подлинность, типичность и др.

Методы идентификации и контроля винодельческой продукции совершенствуются, динамично развиваются инструментальная, испытательная база и математическое (программное) обеспечение, которые позволяют повысить точность, надежность проводимых исследований и расширяют спектр определяемых показателей. При реальной или относительной доступности измерений повышается степень автоматизации анализа и достоверность обработки данных современными методами машинного обучения, нейронными сетями, включая искусственный интеллект, которые позволяют идентифицировать вина с защищенным наименованием места происхождения.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-13-00056) с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования “Эколого-аналитический центр” Кубанского госуниверситета.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Виноградарство и виноделие: информационное издание. М.: ФГБНУ “Росинформагротех”, 2022. 160 с.
2. OIV-MA-INT-00-2023. Compendium of international methods of Wine and must analysis. https://www.oiv.int/sites/default/files/publication/2023-05/Compendium%20MA%20complet_EN.pdf (дата обращения 03.04.2024).
3. ГОСТ Р 59570-2021. Продукция винодельческая. Идентификация компонентов в части определения природы этанола и других соединений физико-химического состава. М.: Стандартинформ, 2021. 106 с.
4. *Arvanitoyannis I.S.* Managing wine quality (Book Chapter) / V. 1: Viticulture and Wine Quality. Amsterdam: Elsevier, 2021. P. 279. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102067-8.00001-4>
5. *Temerdashev Z.A., Abakumov A.G., Kaunova A.A., Shelud'ko O.N., Tsyupko T.G.* Assessment of quality and region of origin of wines // J. Anal. Chem. 2023. V. 78. № 12. P. 1724. <https://doi.org/10.1134/S1061934823120171>
6. *Esteki M., Simal-Gandara J., Shahsavari Z., Zandbaaf S., Dashtaki E., van Vander Heyden Y.* A review on the application of chromatographic methods, coupled to chemometrics, for food authentication (chromatography-chemometrics in food authentication) // Food Control. 2018. V. 93. P. 165. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.06.015>
7. *Sagratini G., Maggi F., Caprioli G., Cristalli G., Ricciutielli M., Torregiani E., Vittori S.* Comparative study of aroma profile and phenolic content of Montepulciano monovarietal red wines from the Marche and Abruzzo regions of Italy using HS-SPME-GC-MS and HPLC-MS // Food Chem. 2012. V. 132. P. 1592. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.108>
8. *Kvasnicka F.* Capillary electrophoresis in food authenticity // J. Sep. Sci. 2005. V. 28. P. 813. <https://doi.org/10.1002/jssc.200500054>
9. *Vaclavik L., Lacina O., Hajslova J., Zeigenbaum J.* The use of high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry coupled to advanced data mining and chemometric tools for discrimination and classification of red wines according to their variety // Anal. Chim. Acta. 2011. V. 685. № 1. P. 45. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.11.018>

10. <https://www.oiv.int/ru/standards/international-code-of-oenological-practices/annexes/maximum-acceptable-limits/maximum-acceptable-limits> (дата обращения 03.04.2024).
11. Яшин Я.И., Яшин А.Я. Аналитическая хроматография. Методы, аппаратура, применение // Успехи химии. 2006. № 4. С. 366. (Yashin Ya.I., Yashin A.Ya. Analytical chromatography. Methods, instrumentation and applications // Russ. Chem. Rev. 2006. T. 75. № 4. P. 329.) <https://doi.org/10.1070/RC2006v075n04ABEH003607>
12. Gambetta J.M., Bastian S.E.P., Cozzolino D., Jeffery D.W. Factors influencing the aroma composition of chardonnay wines // J. Agric. Food Chem. 2014. V. 62. № 28. P. 6512. <https://doi.org/10.1021/jf501945s>
13. Nicolini G., Larcher R., Pangrazzi P., Bontempo L. Changes in the contents of micro- and trace elements in wine due to winemaking treatments // Vitis. 2004. V. 43. P. 41.
14. Longo R., Carew A., Sawyer S., Kemp B., Kerslake F. A review on the aroma composition of Vitis vinifera L. Pinot noir wines: origins and influencing factors // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2021. V. 61. P. 1589. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2106181>
15. Jackson R.S. Wine Tasting: A Professional Handbook. 2nd Ed. San Diego, USA: Academic Press, 2009. 512 p.
16. Joshi V.K., Attri B.L., Panesar P.S., Abrol G.S., Sharma S., Thakur A.D., Selli S., Kelebek H., Reddy L.V. Specific features of table wine production technology / Science and Technology of Fruit Wine Production. 2016. P. 295. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800850-8.00007-7>
17. Perestrelo R., Silva C., Câmara J.S. Madeira wine volatile profile. A platform to establish Madeira wine aroma descriptors // Molecules. 2019. V. 24. № 17. P. 3028. <https://doi.org/10.3390/molecules24173028>
18. Cretin B.N., Dubourdieu D., Marchal A. Influence of ethanol content on sweetness and bitterness perception in dry wines // LWT. 2018. V. 87. P. 61. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.075>
19. Río Segade S., Škrab D., Pezzuto E., Pissoni M.A., Giacosa S., Rolle L. Isomer composition of aroma compounds as a promising approach for wine characterization and differentiation: A review // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2024. V. 64. № 2. P. 334. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2106181>
20. Pisarnitskii A.F. Formation of wine aroma: Tones and imperfections caused by minor components // Appl. Biochem. Microbiol. 2001. V. 37. P. 552. <https://doi.org/10.1023/A:1012390731145>
21. Waterhouse A.L., Sacks G.L., David W., Jeffery D.W. Understanding Wine Chemistry. USA: John Wiley & Sons, 2016. P. 472.
22. Marrufo-Curtido A., de-la-Fuente-Blanco A., Sáenz-Navajas M.-P., Ferreira V., Bueno M., Escudero A. Sensory relevance of strecker aldehydes in wines. Preliminary studies of its removal with different type of resins // Foods. 2021. V. 10. Article 1711. <https://doi.org/10.3390/foods10081711>
23. Abalos D., Vejarano R., Morata A., González C., Suárez-Lepe J.A. The use of furfural as a metabolic inhibitor for reducing the alcohol content of model wines // Eur. Food Res. Technol. 2011. V. 232. P. 663. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1433-9>
24. Савчук С.А. Контроль качества и идентификация подлинности коньяков хроматографическими методами // Партнеры и конкуренты. 2006. № 8. С. 18.
25. Guymon J.F., Crowell E.A. The formation of acetoin and diacetyl during fermentation, and the levels found in wines // Am. J. Enol. Vitic. 1965. V. 16. P. 85. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.2.85>
26. Belda I., Ruiz J., Esteban-Fernández A., Navascués E., Marquina D., Santos A., Moreno-Arribas M.V. Microbial contribution to wine aroma and its intended use for wine quality improvement // Molecules. 2017. V. 22. Article 189. <https://doi.org/10.3390/molecules22020189>
27. Culleré L., Cacho J., Ferreira V. An assessment of the role played by some oxidation-related aldehydes in wine aroma // J. Agric. Food Chem. 2007. V. 55. P. 876. <https://doi.org/10.1021/jf062432k>
28. Liu P.-T., Duan C.-Q., Yan G.-L. Comparing the effects of different unsaturated fatty acids on fermentation performance of saccharomyces cerevisiae and aroma compounds during red wine fermentation // Molecules. 2019. V. 24. P. 538. <https://doi.org/10.3390/molecules24030538>
29. Jackson R.S. Chemical Constituents of Grapes and Wine. Wine Science. San Diego, USA: Academic Press, 2008. P. 270. <https://doi.org/10.1016/b978-012373646-8.50009-3>
30. Baumes R. Wine Aroma Precursors. Wine Chemistry and Biochemistry. Amsterdam: Elsevier, 2009. P. 251.
31. Wang Y., Wei Y., Pan Q. Advance in research on the accumulation and regulation of C₁₃-norisoprenoid derivatives in grape berry and wine // Int. J. Fruit Sci. 2021. V. 38. P. 264. <https://doi.org/10.7506/spkx1002-6630-20190729-397>
32. Perestrelo R., Silva C., Silva P., Câmara J.S. Unraveling Vitis vinifera L. grape maturity markers based

- on integration of terpenic pattern and chemometric methods // *Microchem. J.* 2018. V. 142. P. 367. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.07.017>
33. *Baron M., Prusova B., Tomaskova L., Kumsta M., Sochor J.* Terpene content of wine from the aromatic grape variety 'Irsai Oliver' (*Vitis vinifera* L.) depends on maceration time // *Open Life Sci.* 2017. V. 12. P. 42. <https://doi.org/10.1515/biol-2017-0005>
 34. *Zhang H., Pan Q.* Advances in understanding the formation mechanism of terpenoids during winemaking and factors influencing it // *Shipin Kexue/Food Sci.* 2021. V. 42. P. 249. <https://doi.org/10.7506/spkx1002-6630-20200802-024>
 35. *Milheiro J., Filipe-Ribeiro L., Vilela A., Cosme F., Nunes F.M.* 4-Ethylphenol, 4-ethylguaiacol and 4-ethylcatechol in red wines: Microbial formation, prevention, remediation and overview of analytical approaches // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2019. V. 59. P. 1367. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1408563>
 36. *Sáenz-Navajas M.-P., Campo E., Avizcuri J.M., Valentin D., Fernández-Zurbano P., Ferreira V.* Contribution of non-volatile and aroma fractions to in-mouth sensory properties of red wines: Wine reconstitution strategies and sensory sorting task // *Anal. Chim. Acta.* 2012. V. 732. P. 64. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.12.042>
 37. *Garrido J., Borges F.* Wine and grape polyphenols — A chemical perspective // *Food Res. Int.* 2013. V. 54. P. 1844. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.002>
 38. *Gutiérrez-Escobar R., Aliaño-González M.J., Cantos-Villar E.* Wine polyphenol content and its influence on wine quality and properties // *Molecules.* 2021. V. 26. Article 718. <https://doi.org/10.3390/molecules26030718>
 39. *De Villiers A., Vanhoenacker G., Majek P., Sandra P.* Determination of anthocyanins in wine by direct injection liquid chromatography-diode array detection-mass spectrometry and classification of wines using discriminant analysis // *J. Chromatogr. A.* 2004. V. 1054. P. 195. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.07.087>
 40. *Evers M.S., Roullier-Gall C., Morge C., Sparrow C., Gobert A., Alexandre H.* Vitamins in wine: Which, what for, and how much? // *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2021. V. 20. P. 2991. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12743>
 41. *Pereira V., Pereira A.C., Pérez Trujillo J.P., Cacho J., Marques J.C.* Amino acids and biogenic amines evolution during the estufagem of fortified wines // *J. Chem.* 2015. V. 2015. Article 494285. <https://doi.org/10.1155/2015/494285>
 42. *Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D.* The Chemistry of Wine: Stabilization and Treatments. Handbook of Enology. 2nd Ed. Chichester, England: John Wiley & Sons Ltd., 2006. 450 p.
 43. *Guo Y.-Y., Yang Y.-P., Peng Q., Han Y.* Biogenic amines in wine // *Int. J. Food Sci. Technol.* 2015. V. 50. P. 1523. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12833>
 44. *Tufariello M., Pati S., Palombi L., Grieco F., Losito I.* Use of multivariate statistics in the processing of data on wine volatile compounds obtained by HS-SPME-GC-MS // *Foods.* 2022. V. 11. P. 910. <https://doi.org/10.3390/foods11070910>
 45. *Sorrentino A., Boscaino F., Cozzolino R., Volpea M.G., Ionata E., Guerrieri S., et al.* Characterization of free volatile compounds in fiano wine produced by different selected autochthonous yeasts // *Chem. Eng. Trans.* 2013. V. 32. P. 1837. <https://doi.org/10.3303/CET1332307>
 46. *Zhai H.-Y., Li S.-Y., Zhao X., Lan Y.-B., Zhang X.-K., Shi Y., Duan C.-Q.* The compositional characteristics, influencing factors, effects on wine quality and relevant analytical methods of wine polysaccharides: A review // *Food Chem.* 2023. V. 403. Article 134467. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134467>
 47. *Sehovic D., Petravik V., Marik V.* Glycerol and wine industry. Glycerol determination in grape must and wine // *Chem. Ind.* 2004. V. 53. P. 505.
 48. *Lopez-Vazquez C., Orriols I., Perello M.C., de Revel G.* Determination of aldehydes as pentafluorobenzyl derivatives in grape pomace distillates by HS-SPME-GC/MS // *Food Chem.* 2012. V. 130. P. 1127. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.140>
 49. *Wada K., Shibamoto T.* Isolation and identification of volatile compounds from a wine using solid phase extraction, gas chromatography, and gas chromatography/mass spectrometry // *J. Agric. Food Chem.* 1997. V. 45. № 11. P. 4362. <https://doi.org/10.1021/jf970157j>
 50. *Chatonnet P., Bonnet S., Boutou S., Labadie M.-D.* Identification and Responsibility of 2,4,6-tribromoanisole in musty, corked odors in wine // *J. Agric. Food Chem.* 2004. V. 52. № 5. P. 1255. <https://doi.org/10.1021/jf030632f>
 51. *Villén J., Señoráns F.J., Reglero G., Herráiz M.* Analysis of wine aroma by direct injection in gas chromatography without previous extraction // *J. Agric. Food Chem.* 1995. V. 43. P. 717. <https://doi.org/10.1021/jf00051a029>
 52. *Kwan W.O., Kowalski B.R.* Classification of wines by applying pattern recognition to chemical composition data // *J. Food Sci.* 1978. V. 43. № 4. P. 1320. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1978.tb15299.x>
 53. *Setkova L., Risticvic S., Pawliszyn J.* Rapid headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic-time-of-flight mass spectrometric method for qualitative profiling of ice wine

- volatile fraction. I. Method development and optimization // *J. Chromatogr. A*. 2007. V. 1147. № 2. P. 213.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.02.058>
54. Sun L., Zhang Z., Xia H., Zhang Q., Zhang J. Typical aroma of Merlot dry red wine from Eastern Foothill of Helan Mountain in Ningxia, China // *Molecules*. 2023. V. 28. № 15. Article 5682.
<https://doi.org/10.3390/molecules28155682>
55. Халафян А.А., Теме́рдашев З.А., Абакумов А.Г., Якуба Ю. Ф. Хемометрическая оценка вклада металлов и летучих соединений в сенсорные свойства некоторых натуральных виноградных вин // *Журн аналит. химии*. 2021. Т. 76. № 8. С. 746.
<https://doi.org/10.31857/S0044450221080077> (Khalafyan A.A., Temerdashev Z.A., Abakumov A.G., Yakuba Y.F. Chemometric estimation of the contributions of metals and volatile compounds to the sensory properties of some natural grape wines // *J. Anal. Chem.* 2021. V. 76. № 8. P. 1016.
<https://doi.org/10.1134/S1061934821080074>.)
56. Torrens J., Riu-Aumatell M., López-Tamames E., Buxaderas S. Volatile compounds of red and white wines by headspace-solid-phase microextraction using different fibers // *J. Chromatogr. Sci.* 2004. V. 42. P. 122.
<https://doi.org/10.1093/chromsci/42.6.310>
57. Chin S.-T., Eyres G.T., Marriots P.J. Cumulative solid phase microextraction sampling for gas chromatography-olfactometry of Shiraz wine // *J. Chromatogr. A*. 2012. V. 1255. P. 221.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.03.084>
58. Fernandes L., Relva A.M., Gomes da Silva M.D.R., Costa Freitas A.M. Different multidimensional chromatographic approaches applied to the study of wine malolactic fermentation // *J. Chromatogr. A*. 2003. V. 995. P. 161.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00517-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00517-X)
59. Francis I.L., Newton J.L. Determining wine aroma from compositional data // *Aust. J. Grape Wine Res.* 2005. V. 11. № 2. P. 114.
<https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00283.x>
60. Angioni A., Pintore G.M., Caboni P. Determination of wine aroma compounds by degidration followed by GC/MS // *J. AOAC Int.* 2012. V. 95. № 3. P. 813.
<https://doi.org/10.5740/jaoacint.11-313>
61. Dawidowicz A.L., Dybowski M.P. Fast determination of α - and β -thujone in alcoholic beverages using solid-phase extraction and gas chromatography // *Food Control*. 2012. V. 25. P. 197.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.045>
62. Zapata J., Mateo-Vivaracho L., Lopez R., Ferreira V. Automated and quantitative headspace in-tube extraction for the accurate determination of highly volatile compounds from wines and beers // *J. Chromatogr. A*. 2012. V. 1230. P. 1.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.01.037>
63. Welke J.E., Manfroi V., Zanús M., Lazarotto M., Zini C.A. Characterization of the volatile profile of Brazilian Merlot wines through comprehensive two dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometric detection // *J. Chromatogr. A*. 2012. V. 1226. P. 124.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.01.002>
64. Qian X., Ling M., Sun Y., Han F., Shi Y., Duan C., Lan Y. Decoding the aroma characteristics of icewine by partial least-squares regression, aroma reconstitution, and omission studies // *Food Chem.* 2024. V. 440. Article 138226.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138226>
65. Panighel A., Flamini R. Applications of solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry (SPME-GC/MS) in the study of grape and wine volatile compounds // *Molecules*. 2014. V. 19. № 12. P. 21291.
<https://doi.org/10.3390/molecules191221291>
66. Marinaki M., Sampsonidis I., Lioupi A., Arapitsas P., Thomaidis N., Zinoviadou K., Theodoridis G. Development of two-level design of experiments for the optimization of a HS-SPME-GC-MS method to study Greek monovarietal PDO and PGI wines // *Talanta*. 2023. V. 253. Article 123987.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123987>
67. Ngxangxa S., Tredoux A.G.J., de Villiers A. Comprehensive two-dimensional gas chromatography-high resolution mass spectrometry for the detailed qualitative analysis of old vine Chenin blanc wine volatiles and comparison with young vine Chenin blanc wines // *J. Chromatogr. Open*. 2024. V. 5. Article 100116.
<https://doi.org/10.1016/j.jcoa.2024.100116>
68. Weldegergis B.T., Crouch A.M., Górecki T., de Villiers A. Solid phase extraction in combination with comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry for the detailed investigation of volatiles in South African red wines // *Anal. Chim. Acta*. 2011. V. 701. № 1. P. 98.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.06.006>
69. Ubeda C., Cortejosa D., Morales M.L., Callejón R.M., Ríos-Reina R. Determination of volatile compounds for the differentiation of PDO fortified wines with different ageing methods as a tool for controlling their authenticity // *Int. Food Res.* 2023. V. 173. Article 113320.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113320>
70. Dumitriu G.-D., Sánchez-Suárez F., Peinado R.A., Cotea V.V., de Lerma N.L., Gabur I., Simioniuc V. Metabolomics of red wines aged traditionally, with chips or staves // *Foods*. 2024. V. 13. № 2. P. 196.
<https://doi.org/10.3390/foods13020196>

71. *Slaghenaufl D., Peruch E., De Cosmi M., Nouvelle L., Ugliano M.* Volatile and phenolic composition of monovarietal red wines of Valpolicella appellations // *Oeno One*. 2021. V. 55. № 1. P. 279.
<https://doi.org/10.20870/OENO-ONE.2021.55.1.3865>
72. *Welke J.E., Hernandez K.C., Nicolli K.P., Barbará J.A., Biasoto A.C.T., Zini C.A.* Role of gas chromatography and olfactometry to understand the wine aroma: Achievements denoted by multidimensional analysis // *J. Sep. Sci.* 2021. V. 44. № 1. P. 135.
<https://doi.org/10.1002/jssc.202000813>
73. *Pickering G.J., Blake A., Kotseridi Y.* Effect of closure, packaging and storage conditions on impact odorants of wine // *Czech. J. Food Sci.* 2009. V. 27. P. 62.
<https://doi.org/10.17221/1104-cjfs>
74. *Perini M., Strojnik L., Paolini M., Camin F.* Gas chromatography combustion isotope ratio mass spectrometry for improving the detection of authenticity of grape must // *J. Agric. Food Chem.* 2020. V. 68. № 11. P. 3322.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b05952>
75. Вина и алкогольные напитки. Директивы и регламенты Европейского Союза. М.: Издательство стандартов, 2000. 616 с.
76. *Radovanovic A., Jovančičević B., Arsic B., Bukarica L.* Application of non-supervised pattern recognition techniques to classify Cabernet Sauvignon wines from the Balkan region based on individual phenolic compounds // *J. Food Compos. Anal.* 2016. V. 49. P. 42.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.04.001>
77. *Lisov N., Čakar U., Milenković D., Čebela M., Vuković G., Despotović S., Petrović A.* The influence of Cabernet Sauvignon ripeness, healthy state and maceration time on wine and fermented pomace phenolic profile // *Fermentation*. 2023. V. 9. № 7. P. 695.
<https://doi.org/10.3390/fermentation9070695>
78. *Kyrleou M., Kallithraka S., Gkanidi E., Koundouras S., Mannion D.T., Kilcawley K.N.* Discrimination of five Greek red grape varieties according to the anthocyanin and proanthocyanidin profiles of their skins and seeds // *J. Food Compos. Anal.* 2020. V. 92. Article 103547.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103547>
79. *Palade L.M., Popa M.E.* Polyphenol fingerprinting approaches in wine traceability and authenticity: Assessment and implications of red wines // *Beverages*. 2018. V. 4. № 4. P. 75.
<https://doi.org/10.3390/beverages4040075>
80. *Oliva E., Mir-Cerdà A., Sergi M., Sentellas S., Saurina J.* Characterization of sparkling wine based on polyphenolic profiling by liquid chromatography coupled to mass spectrometry // *Fermentation*. 2023. V. 9. № 3. P. 223.
<https://doi.org/10.3390/fermentation9030223>
81. *Mir-Cerdà A., Saurina J., Sentellas S.* Bioactive amines in wines. The assessment of quality descriptors by flow injection analysis with tandem mass spectrometry // *Molecules*. 2022. V. 27. № 24. Article 8690.
<https://doi.org/10.3390/molecules27248690>
82. *Perestrelo R., Lu Y., Santos S.A.O., Silvestre A.J.D., Neto C.P., Camara J.S., Rocha S.M.* Phenolic profile of Sercial and Tinta Negra Vitis vinifera L. grape skins by HPLC–DAD–ESI–MSn: Novel phenolic compounds in Vitis vinifera L. grape // *Food Chem.* 2012. V. 135. P. 94.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.102>
83. *Eremia S.A.V., Albu C., Radu G.L., Ion M.* Different extraction approaches for the analysis of melatonin from Cabernet Sauvignon and Feteasca Neagra wines using a validated HPLC–FL method // *Molecules*. 2023. V. 28. № 6. Article 2768.
<https://doi.org/10.3390/molecules28062768>
84. *Perini M., Pianezze S., Guardini K., Allari L., Larcher R.* Authentication and geographical characterisation of italian grape musts through glucose and fructose carbon isotopic ratios determined by LC–IRMS // *Molecules*. 2023. V. 28. Article 1411.
<https://doi.org/10.3390/molecules28031411>
85. *Karaaslan-Ayhan N., Yaman M.* Determination of anthocyanins and anthocyanidins in the wild grape (*Vitis sylvestris* Gmelin) by high-performance liquid chromatography–diode array detection (HPLC–DAD) // *Instrum. Sci. Technol.* 2021. V. 50. № 1. P. 57.
<https://doi.org/10.1080/10739149.2021.1954532>
86. *Figueiredo-González M., Simal-Gándara J., Boso S., Martínez M.C., Santiago J.L., Cancho-Grande B.* Anthocyanins and flavonols berries from Vitis vinifera L. cv. Brancellao separately collected from two different positions within the cluster // *Food Chem.* 2012. V. 135. № 1. P. 47.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.054>
87. *Kőrösi L., Molnár S., Teszlák P., Dörnyei Á., Maul E., Töpfer R., Marosvölgyi T., Szabó É., Röckel F.* Comparative study on grape berry anthocyanins of various teinturier varieties // *Foods*. 2022. V. 11. Article 3668.
<https://doi.org/10.3390/foods11223668>
88. *Kalogiouri N.P., Karadimou C., Avgidou M.S., Petsa E., Papadakis E.N., Theocharis S., et al.* An optimized HPLC–DAD methodology for the determination of anthocyanins in grape skins of red Greek winegrape cultivars (*Vitis vinifera* L.) // *Molecules*. 2022. V. 27. № 20. Article 7107.
<https://doi.org/10.3390/molecules27207107>

89. Meng J.F., Fang Y.-L., Qin M.-Y., Zhuang X.F., Zhang Z.-W. Varietal differences among the phenolic profiles and antioxidant properties of four cultural of spine grape (*Vitis Vinifera* Foex) in Chongyi County (Chine) // *Food Chem.* 2012. V. 134. P. 2049.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.005>
90. Uzhel A.S., Borodina A.N., Gorbovskaya A.V., Shpigun O.A., Ztirakha A.V. Determination of full organic acid profiles in fruit juices and alcoholic beverages using novel chemically derivatized hyperbranched anion exchanger // *J. Food Compos. Anal.* 2021. V. 95. Article 103674.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103674>
91. Rustioni L., Bedgood D.R., Failla O., Prentzler P.D., Robards K. Copigmentation and anti-copigmentation in grape extracts studied by spectrophotometry and post-column-reaction HPLC // *Food Chem.* 2012. V. 132. P. 2194.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.058>
92. Esti M.B., Liburdi K., Acciaro G. Monitoring of ochratoxin A fate during alcoholic fermentation of wine-must // *Food Control.* 2012. V. 127. P. 53.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.02.030>
93. Robles A., Fabjanowicz M., Chmiel T., Płotka-Wasyłka J. Determination and identification of organic acids in wine samples. Problems and challenges // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 120. Article 115630.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115630>
94. Amelin V.G., Podgolzin I.V., Tretiakov A.V. Determination of organic acids in alcoholic and nonalcoholic beverages by reversed phase high performance liquid chromatography // *J. Anal. Chem.* 2012. V. 67. P. 262.
<https://doi.org/10.1134/S1061934812010030>
95. Lima M.M., Choy Y.Y., Tran J., Lydon M., Runnebaum R.C. Organic acids characterization: Wines of Pinot Noir and juices of 'Bordeaux grape varieties' // *J. Food Compos. Anal.* 2022. V. 114. Article 104745.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104745>
96. Perestrelo R., Bordiga M., Locatelli M., Silva C., Câmara J.S. Polyphenols, biogenic amines and amino acids patterns in Verdelho wines according to vintage // *Microchem. J.* 2019. V. 153. Article 104383.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104383>
97. Lola D., Miliordos D.E., Goulioti E., Haroutounian S.A., Kotseridis Y. Assessment of the volatile and non-volatile profile of Savatiano PGI wines as affected by various terroirs in Attica, Greece // *Int. Food Res.* 2023. V. 174. Article 113649.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113649>
98. Valente I., Santo C.M., Goncalves L.M., Rodriguez J.A., Barros A.A. Application of gas-diffusion microextraction for high performance liquid chromatographic analysis of aliphatic amines in fermented beverages // *Anal. Methods.* 2012. V. 4. P. 2569.
<https://doi.org/10.1039/C2AY25272D>
99. Bach B., Le Quere S., Vuchot P., Grinbaum M., Barnavon L. Validation of a method for the analysis of biogenic amines: Histamine instability during wine sample storage // *Anal. Chim. Acta.* 2012. V. 732. P. 114.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.12.036>
100. Quiros M., Gonzalez R., Morales P. A simple method for total quantification of manno-protein content on real wine samples // *Food Chem.* 2012. V. 134. P. 1205.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.168>
101. Antonioli A., Fontana A.R., Piccoli P., Bottini R. Characterization of polyphenols and evaluation of antioxidant capacity in grape pomace of the cv. Malbec // *Food Chem.* 2015. V. 178. № 1. P. 172.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.082>
102. Захарова А.М., Карцова Л.А., Гринштейн И.Л. Определение органических кислот, углеводов и подсластителей в пищевых продуктах и биологически активных добавках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // *Аналитика и контроль.* 2013. Т. 17. № 2. С. 204.
103. Navarro-Abril A., Saurina J., Sentellas S. Simultaneous determination of amino acids and biogenic amines by liquid chromatography coupled to mass spectrometry for assessing wine quality // *Beverages.* 2022. V. 8. № 4. P. 69.
<https://doi.org/10.3390/beverages8040069>
104. Sun N., Zhao L., Liu A., Su L., Shi K., Zhao H., Liu S. Role of amino acids in flavor profiles and foam characteristics of sparkling wines during aging // *J. Food Compos. Anal.* 2024. V. 126. Article 105903.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105903>
105. Velasco J., Núñez O. The role of capillary electrophoresis in the characterization and determination of polyphenols and phenolic compounds in food / *Advances in Chemistry Research.* Nova Science Publishers Inc., 2021. V. 68. P. 1.
106. Gomez F.J.V., Monasterio R.P., Vargas V.C.S., Silva M.F. Analytical characterization of wine and its precursors by capillary electrophoresis // *Electrophoresis.* 2012. V. 33. № 15. P. 2240.
<https://doi.org/10.1002/elps.201100595>
107. Якуба Ю.Ф. Прямое определение основных аминокислот вина // *Заводск. лаборатория. Диагностика материалов.* 2010. Т. 76. № 4. С. 12.
108. Mandrioli R., Morganti E., Mercolini L., Kandler E., Raggi M.A. Fast analysis of amino acids in wine by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection // *Electrophoresis.*

2011. V. 32. P. 2809.
<https://doi.org/10.1002/elps.201100112>
109. *Khalafyan A., Temerdashev Z., Abakumov A., Yakuba Y., Sheludko O., Kaunova A.* Multidimensional analysis of the interaction of volatile compounds and amino acids in the formation of sensory properties of natural wine // *Heliyon*. 2023. V. 9. № 1. Article e12814.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e12814>
110. *Адамсон В.Г., Комарова Н.В.* Способ определения органических кислот в безалкогольных и алкогольных напитках методом капиллярного электрофореза. Патент РФ № 2350938. Заявка 2007132860 от 27.03.2009, опубл. 27.03.2009.
111. *Rodríguez-Delgado M.A., Malovaná S., Montelongo F.J., Cifuentes A.* Fast analysis of proteins in wines by capillary gel electrophoresis // *Eur. Food Res. Technol.* 2002. V. 214. P. 536.
<https://doi.org/10.1007/s00217-002-0514-1>
112. *Ashmore P.L., Valdez F., Harbertson J.F., Boulton R.B., Collins T.S.* Rapid determination of free sulfur dioxide in wine and cider by capillary electrophoresis // *J. Chromatogr. A*. 2023. V. 1695. Article 463936.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.463936>
113. *Ruiz-Jimenez J., Luque de Castro M.D.* On-line pervaporation-capillary electrophoresis for the determination of flying acidity and free sulfur dioxide in wines // *Electrophoresis*. 2005. V. 26. P. 2231.
<https://doi.org/10.1002/elps.200410398>
114. *Pazourek J., Gonzales G., Revilla A.L., Havel J.* Separation of polyphenols in Canary Islands wines by capillary electrophoresis without preconcentration // *J. Chromatogr. A*. 2000. V. 874. P. 111.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)01348-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)01348-5)
115. *Şanlı S., Şanlı N., Özkan S.A., Lunte C.* Development and validation of a green capillary electrophoretic method for determination of polyphenolic compounds in red wine samples // *Chromatographia*. 2016. V. 79. P. 1351.
<https://doi.org/10.1007/s10337-016-3147-4>
116. *Gomez F.J.V., Silva M.F.* Microchip electrophoresis for wine analysis // *Anal. Bioanal. Chem.* 2016. V. 408. P. 8643.
<https://doi.org/10.1007/s00216-016-9841-0>
117. *Rapeanu G., Vicol C., Bichescu C.* Possibilities to assess the wines authenticity // *Innov. Rom. Food Biotechnol.* 2009. V. 5. P. 1.
118. ГОСТ Р 55242-2012. Вина с защищенным географическим указанием и вина с защищенным наименованием места происхождения товара. Общие технические условия. М: Стандартинформ, 2013. 7 с.
119. *Temerdashev Z., Abakumov A., Khalafyan A., Bolshov M., Lukyanov A., Vasilyev A., Gipich E.* The influence of the soil profile on the formation of the elemental image of grapes and wine of the Cabernet Sauvignon variety // *Molecules*. 2024. V. 29. Article 2251.
<https://doi.org/10.3390/molecules29102251>
120. *Temerdashev Z.A., Abakumov A.G., Khalafyan A.A., Ageeva N.M.* Correlations between the elemental composition of grapes, soils of the viticultural area and wine // *Ind. Lab. Diagn. Mater.* 2021. V. 87. P. 11.
<https://doi.org/10.26896/1028-6861-2021-87-11-11-18>
121. *Han G., Dai L., Sun Y., Li C., Ruan S., Li J., Xu Y.* Determination of the age of dry red wine by multivariate techniques using color parameters and pigments // *Food Control*. 2021. V. 129. Article 108253.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108253>
122. *Temerdashev Z., Abakumov A., Bolshov M., Khalafyan A., Ageeva N., Vasilyev A., Ramazanov A.* Instrumental assessment of the formation of the elemental composition of wines with various bentonite clays // *Microchem. J.* 2022. V. 175. Article 107145.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.107145>
123. *Geană E.-I., Teodora Ciucure C., Artem V., Apetrei C.* Wine varietal discrimination and classification using a voltammetric sensor array based on modified screen-printed electrodes in conjunction with chemometric analysis // *Microchem. J.* 2020. V. 159. Article 105451.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105451>
124. *Hao X., Gao F., Wu H., Song Y., Zhang L., Li H., Wang H.* From soil to grape and wine: Geographical variations in elemental profiles in different Chinese regions // *Foods*. 2021. V. 10. Article 3108.
<https://doi.org/10.3390/foods10123108>
125. *Temerdashev Z., Bolshov M., Abakumov A., Khalafyan A., Kaunova A., Vasilyev A., Sheludko O., Ramazanov A.* Can rare earth elements be considered as markers of the varietal and geographical origin of wines? // *Molecules*. 2023. V. 28. Article 4319.
<https://doi.org/10.3390/molecules28114319>
126. *Baker A.K., Ross C.F.* Sensory evaluation of impact of wine matrix on red wine finish: A preliminary study // *J. Sens. Stud.* 2014. V. 29. P. 139.
<https://doi.org/10.1111/joss.12089>
127. *Cordente A.G., Espinase Nandorfy D., Solomon M., Schulkin A., Kolouchova R., Francis I.L., Schmidt S.A.* Aromatic higher alcohols in wine: Implication on aroma and palate attributes during Chardonnay aging // *Molecules*. 2021. V. 26. Article 4979.
<https://doi.org/10.3390/molecules26164979>
128. *Халафян А.А., Тимердашев З.А., Абакумов А.Г., Якуба Ю.Ф.* Хеометрический (геометрический) подход к ранжированию сухих белых вин по результатам сенсорной оценки их

- качества // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 8. С. 736.
<https://doi.org/10.31857/S0044450221080065>
(Khalafyan A.A., Temerdashev Z.A., Abakumov A.G., Yakuba Y.F. A chemometric (geometric) approach to ranking dry white wines by the results of sensory evaluation of their quality // J. Anal. Chem. 2021. V. 76. № 8. P. 1007.
<https://doi.org/10.1134/S1061934821080062>)
129. Rapp A. Volatile flavour of wine: Correlation between instrumental analysis and sensory perception // Nahrung – Food. 1998. V. 42. № 6. P. 351.
[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1521-3803\(199812\)42:06<351::aid-food351>3.3.co;2-u](https://doi.org/10.1002/(sici)1521-3803(199812)42:06<351::aid-food351>3.3.co;2-u)
130. Vilanova M., Escudero A., Grana M., Cacho J. Volatile composition and sensory properties of Vitis vinifera red cultivars from North West Spain: Correlation between sensory and instrumental analysis // Anal. Chim. Acta. 2012. V. 720. P. 104.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.01.026>
131. Spence C. What is the relationship between the presence of volatile organic compounds in food and drink products and multisensory flavour perception? // Foods. 2021. V. 10. Article 1570.
<https://doi.org/10.3390/foods10071570>
132. López R., Aznar M., Cacho J., Ferreira V. Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection // J. Chromatogr. A. 2002. V. 966. P. 167.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00696-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00696-9)
133. González-Barreiro C., Rial-Otero R., Cancho-Grande B., Simal-Gándara J. Wine aroma compounds in grapes // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2015. V. 55. P. 202.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2011.650336>
134. García-Jares C.M., García-Martin M.S., Carro-Mariño N., Cela-Torrijos R. GC-MS identification of volatile components of Galician (Northwestern Spain) white wines. Application to differentiate Rías Baixas wines from wines produced in nearby geographical regions // J. Sci. Food Agric. 1995. V. 69. P. 175.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.2740690207>
135. Versari A., Laurie V.F., Ricci A., Laghi L., Parpinello G.P. Progress in authentication, typification and traceability of grapes and wines by chemometric approaches // Food Res. Int. 2014. V. 60. P. 2.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.02.007>
136. Tzachristas A., Pasvanka K., Calokerinos A., Proestos C. Polyphenols: Natural antioxidants to be used as a quality tool in wine authenticity // Appl. Sci. 2020. V. 10. P. 5908.
<https://doi.org/10.3390/app10175908>
137. Langen J., Wegmann-Herr P., Schmarr H.-G. Quantitative determination of α -ionone, β -ionone, and β -damascenone and enantiodifferentiation of α -ionone in wine for authenticity control using multidimensional gas chromatography with tandem mass spectrometric detection // Anal. Bioanal. Chem. 2016. V. 408. P. 6483.
<https://doi.org/10.1007/s00216-016-9767-6>
138. Kapusta I., Cebulak T., Oszmiański J. The anthocyanins profile of red grape cultivars growing in south-east Poland (Subcarpathia region) // J. Food Meas. Charact. 2017. V. 11. P. 1863.
<https://doi.org/10.1007/s11694-017-9568-4I>
139. Gupta Y. Selection of important features and predicting wine quality using machine learning techniques // Procedia Comput. Sci. 2018. V. 125. P. 305.
<https://doi.org/10.1016/j.procs.2017.12.041>
140. Халафян А.А., Темердашев З.А., Каунова А.А., Абакумов А.Г., Титаренко В.О., Акинъшина В.А., Ивановец Е.А. Установление сортовой и региональной принадлежности белых вин с использованием нейросетевых технологий // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 6. С. 464.
<https://doi.org/10.1134/S0044450219060057>
(Khalafyan A.A., Temerdashev Z.A., Kaunova A.A., Abakumov A.G., Titarenko V.O., Akin'shina V.A., Ivanovets E.A. Determination of the wine variety and geographical origin of white wines using neural network technologies // J. Anal. Chem. 2019. V. 74. № 6. P. 617.
<https://doi.org/10.1134/S1061934819060042>)
141. Geana E.I., Marinescu A., Iordache A.M., Sandru C., Ionete R.E., Bala C. Differentiation of Romanian wines on geographical origin and wine variety by elemental composition and phenolic components // Food Anal. Methods. 2014. V. 7. P. 2064.
<https://doi.org/10.1007/s12161-014-9846-2>
142. Arozarena I., Casp A., Marin R., Navarro M. Differentiation of some Spanish wines according to variety and region based on their anthocyanin composition // Eur. Food Res. Technol. 2000. V. 212. P. 108.
<https://doi.org/10.1007/s002170000212>
143. Mattivi F., Guzzon R., Vrhovsek U., Stefanini A.M., Velasco R. Metabolite profiling of grape: Flavonols and anthocyanins // J. Agric. Food Chem. 2006. V. 54. P. 7692.
<https://doi.org/10.1021/jf061538c>
144. González-Neves G., Franco J., Barreiro L., Gil G., Moutounet M., Carbonneau A. Varietal differentiation of Tannat, Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes and wines according to their anthocyanic composition // Eur. Food Res. Technol. 2007. V. 225. P. 111.
<https://doi.org/10.1007/s00217-006-0388-8>
145. Kallithraka S., Mamalos A., Makris D.P. Differentiation of young red wines based on chemo-metrics

- of minor polyphenolic constituents // *J. Agric. Food Chem.* 2007. V. 55. P. 3233.
<https://doi.org/10.1021/jf070114v>
146. Jaitz L., Siegl K., Eder R., Rak G., Abranko L., Koellensperger G., Hann S. LC–MS/MS analysis of phenols for classification of red wine according to geographic origin, grape variety and vintage // *Food Chem.* 2010. V. 122. P. 366.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.053>
147. Vergara C., Von Baer D., Mardones C., Gutiérrez L., Hermosín-Gutiérrez I., Castillo-Muñoz N. Flavonol profiles for varietal differentiation between carménère and merlot wines produced in Chile: HPLC and chemometric analysis // *J. Chil. Chem. Soc.* 2011. V. 56. P. 827.
<https://doi.org/10.4067/S0717-97072011000400001>
148. Serrano-Lourido D., Saurina J., Hernández-Cassou S., Checa A. Classification and characterisation of Spanish red wines according to their appellation of origin based on chromatographic profiles and chemometric data analysis // *Food Chem.* 2012. V. 135. P. 1425.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.010>
149. Pisano P.L., Silva M.F., Olivieri A.C. Anthocyanins as markers for the classification of Argentinean wines according to botanical and geographical origin. Chemometric modeling of liquid chromatography–mass spectrometry data // *Food Chem.* 2015. V. 175. P. 174.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.124>
150. Sen I., Tokatli F. Authenticity of wines made with economically important grape varieties grown in Anatolia by their phenolic profiles // *Food Control.* 2014. V. 46. P. 446.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.06.015>
151. Delcambre A., Saucier C. High-throughput OE-nomics: Shotgun polyphenomics of wines // *Anal. Chem.* 2013. V. 85. P. 9736.
<https://doi.org/10.1021/ac4021402>
152. Rosillo L., Salinas M.R., Garijo J., Alonso G.L. Study of the volatiles in grapes by dynamic headspace analysis, application to the differentiation of some *Vitis vinifera* varieties // *J. Chromatogr. A.* 1999. V. 847. P. 155.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)00036-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)00036-9)
153. Nasi A., Ferranti P., Amato S., Chianese L. Identification of free and bound volatile compounds as typicalness and authenticity markers of non-aromatic grapes and wines through a combined use of mass spectrometric techniques // *Food Chem.* 2008. V. 110. P. 762.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.001>
154. Weldegergis B.T., De Villiers A., Crouch A.M. Chemometric investigation of the volatile content of young South African wines // *Food Chem.* 2011. V. 128. P. 1100.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.100>
155. Welke J.E., Manfroi V., Zanus M., Lazzarotto M., Zini C.A. Differentiation of wines according to grape variety using multivariate analysis of comprehensive two-dimensional gas chromatography with time of flight mass spectrometric detection data // *Food Chem.* 2013. V. 141. P. 3897.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.100>
156. Kružlicová D., Mocak J., Balla B., Petka J., Farková M., Havel J. Classification of Slovak white wines using artificial neural networks and discriminant techniques // *Food Chem.* 2009. V. 112. P. 1046.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.047>

CHROMATOGRAPHIC METHODS IN THE IDENTIFICATION AND DETERMINATION OF THE COMPONENT COMPOSITION AND QUALITY OF WINES

Z. A. Temerdashev^{a, *}, A. G. Abakumov^a, O. N. Sheludko^b, Yu. F. Yakuba^b and T. G. Tsyupko^a

^a*Kuban State University, Faculty of Chemistry and High Technologies
Stavropolskaya Str., 149, 350040 Krasnodar, Russia*

^b*North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, and Winemaking
40th Victory Anniversary Str., 39, 350072 Krasnodar, Russia*

** E-mail: temza@kubsu.ru*

Abstract. A review of the literature and regulatory documents on the identification and determination of organic compounds that form the component composition and consumer properties of wines is presented. It is noted that the capabilities, informative value and versatility of modern chromatographic methods in combination with mathematical software have significantly increased the degree of automation and reliability of obtaining data on the identification and determination of a wide range of components in wine. The conditions for determining high and low concentrations of organic compounds included in the component composition and determining the qualitative and regional characteristics of wines are discussed. To solve the problems of identification and determination of the components responsible for the advantages and disadvantages of wine products, various methods of gas chromatography and mass spectrometry gas chromatography are most widely used, providing reliable determination of relatively volatile components. Non-volatile components of wines are determined by high-performance liquid chromatography with various detection methods, as well as high-performance capillary electrophoresis. The main approaches to establishing the profile and regional affiliation of wines by component composition, combining the capabilities of modern analytical methods with statistical analysis methods, such as multiple regression analysis, general linear models, multidimensional scaling, covariance and canonical analysis, classification and machine learning methods, neural networks, are analyzed. Examples of their use in practice are demonstrated.

Keywords: wines, component composition, quality, regional affiliation, methods of statistical analysis.

УДК 543.61 + 663.253

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СОРБЕНТОВ С РАЗЛИЧНОЙ АЛЛОТРОПНОЙ ФОРМОЙ УГЛЕРОДА, В ТОМ ЧИСЛЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК

© 2024 г. С. С. Гражулене^а, Н. И. Золотарева^{а, *}, И. И. Ходос^а

^а *Институт проблем технологии микроэлектроники и особочистых материалов РАН
ул. Академика Осипьяна, 6, 142432 Черноголовка, Россия*

^{*} *E-mail: zol@iptm.ru*

Поступила в редакцию 25.04.2024 г.

После доработки 31.05.2024 г.

Принята к публикации 03.06.2024 г.

Изучена сорбция ионов токсичных Be(II), Bi(III), Cd(II), Cr(III), Pb(II) и благородных металлов Ag(I), Au(III) и Pd(II) из водных сред на углеродных нанотрубках, (УНТ), магнитном наносорбенте, состоящем из УНТ и магнитных наночастиц магнетита, (УНТ@МНЧ), а также активированном угле (АУ). Продемонстрировано преимущество в емкости сорбентов с УНТ по сравнению с АУ примерно в 1.5–2 раза. Найдена зависимость сорбционной емкости синтезированного магнитного сорбента от морфологии УНТ, полученных на катализаторах подгруппы железа: Ni — УНТ(Ni), Co — УНТ(Co) и Fe — УНТ(Fe). Показано преимущество УНТ@МНЧ по сравнению с другими углеродными сорбентами при разделении твердой и жидкой фаз магнитной твердофазной экстракцией, а также экономичность композитных сорбентов, содержащих УНТ(Co) и УНТ(Fe), которые при индивидуальном применении в качестве сорбентов не дают удовлетворительных результатов. С использованием изученных углеродных сорбентов разработаны методики и представлены метрологические характеристики определения элементов в водных растворах методом дугового атомно-эмиссионного анализа.

Ключевые слова: углеродные сорбенты, магнитные сорбенты, магнитная твердофазная экстракция, сорбция ионов благородных и токсичных металлов.

DOI: 10.31857/S0044450224100022, EDN: TFOQED

Несмотря на успехи аналитической химии в области определения малых содержаний элементов с использованием сорбционных методов концентрирования, продолжается поиск современных сорбентов в сочетании с экономичными методами анализа в соответствии с возникающими новыми задачами. Издавна для этих целей существенная роль отводилась простым и эффективным угольным сорбентам. К настоящему времени с открытием новых аллотропных форм углерода, в частности фуллеренов, углеродных нанотрубок (УНТ), графенов и их производных, исследования в этой области интенсифицировались. Сорбенты на основе УНТ привлекательны благодаря простоте их синтеза, сорбционной емкости, достаточной для достижения низких пределов определения примесей, высокой скорости массообмена, полноте сорбции и десорбции, легкости регенерации. Такие сорбенты с успехом применяются как для аналитических, так и для препаративных целей при извлечении по-

лезных, например благородных, микроэлементов из геологических пород и различных технологических сред, а также в целях защиты окружающей среды от токсичных элементов. К настоящему времени на эту тему имеется множество публикаций, например [1–6], и накоплен большой экспериментальный материал, требующий осмысления, сопоставления и выбора оптимальных схем разделения для решения той или иной задачи. Как правило, в качестве сорбентов используют модифицированные УНТ, в основном окисленные после их синтеза различными способами. Введенные функциональные группы (карбоксильные, карбонильные) повышают отрицательный заряд поверхности углерода, увеличивая катионообменную емкость УНТ. Однако, как показано нами ранее [7, 8], при казалось бы идентичных условиях окисления способность к такой модификации УНТ существенным образом зависит от генезиса образца, а именно: от условий его синтеза методом химического оса-

ждения из газовой фазы, широко известным в международной практике как CVD метод, от температуры и типа катализатора.

Понятие эффективности сорбента, помимо его физико-химических свойств (емкости, коэффициентов распределения, селективности, полноты извлечения, кинетики), включает также экономичность процессов разделения (извлечения), что особенно существенно при крупномасштабном практическом использовании. Одним из путей повышения эффективности сорбционных материалов является использование высокодисперсных сорбентов, например в твердофазной экстракции (ТФЭ), для концентрирования примесей из органических и неорганических растворов. Однако применение таких сорбентов осложняется рядом проблем, связанных с разделением фаз после сорбции. Так, в статических методах использование для этих целей фильтрования и центрифугирования чрезвычайно трудоемко и не всегда возможно. В динамических методах концентрирования возникают сложности, связанные с заполнением колонки высокодисперсными сорбентами, особенно имеющими рыхлую, ватообразную консистенцию. Кроме того, скорость пропускания раствора через колонку с наносорбентом падает в результате возрастания сопротивления потоку жидкости. Для преодоления этих трудностей весьма перспективным представляется давно известный метод магнитной сепарации веществ. В семидесятых годах двадцатого столетия в связи с применением низкоразмерных магнитных частиц, обладающих рядом необычных физических и химических свойств, связанных с проявлением квантовых размерных эффектов, метод магнитной сепарации получил новый мощный толчок развития в различных областях, в том числе в аналитике. Были синтезированы композиты, содержащие магнитные наночастицы (МНЧ), для модификации различных сорбентов, в том числе углеродных. При изучении возможностей таких композитов чаще всего делался акцент на упрощении и ускорении процессов разделения твердой и жидкой фаз в ходе магнитной твердофазной экстракции (МТФЭ).

Цель настоящей работы — сравнение возможностей различных углеродных сорбентов по отношению к токсичным и некоторым благородным металлам, а также детальное исследование с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) структурных особенностей формирования магнитного композита, содержащего УНТ всех приведенных выше морфологий, и их корреляция с его сорбционными возможностями по отношению ко всем изученным элементам.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез УНТ осуществляли методом химического осаждения из газовой фазы по разработанной

нами методике каталитического пиролиза паров этанола (CVD) [9]. УНТ осаждали на поверхности никелевого, кобальтового или железного катализатора, которые после синтеза отмывали 30%-ной HNO_3 . Затем образцы промывали деионизованной водой до нейтральной реакции, высушивали и проводили окислительную модификацию путем кипячения УНТ в конц. HNO_3 ос. ч. в течение 1.5 ч. Далее отмывали от кислоты деионизованной водой до pH 7, высушивали, просеивали через сито с размером пор 60 меш и использовали для синтеза композита.

Синтез МНЧ выполняли в соответствии с методикой, предложенной в работе [10]. Использовали свежеприготовленные растворы хлоридов железа(III) и (II) при их соотношении 2 : 1. Синтез проводили при 80°C в атмосфере инертного газа (аргона) при интенсивном перемешивании в течение одного часа. Затем в раствор быстро добавляли 20 мл 25–30%-ного раствора NH_3 до достижения pH 10. После охлаждения раствор из колбы удаляли, а осадок магнетита удерживали в колбе с помощью магнита. Осадок промывали деионизованной водой и этанолом до pH 7, высушивали до сухого остатка при 60°C и помещали в эксикатор в закрытом боксе для дальнейшего использования в синтезе композита.

Магнитный композит УНТ@МНЧ синтезировали в две стадии. Вначале получали МНЧ и УНТ описанными выше способами. Далее их в различных соотношениях помещали в коническую колбу, добавляли 30 мл деионизованной воды и перемешивали при комнатной температуре мешалкой с возвратно-поступательным движением в течение 30 мин. Образующийся магнитный сорбент удерживали в колбе магнитом, а раствор, содержащий не связавшиеся в композит УНТ, переносили в кварцевую чашку. Оставшийся в колбе полученный сорбент дважды промывали деионизованной водой, промывные воды помещали сливали в ту же кварцевую чашку, высушивали под ИК-лампой и взвешивали. По разности масс исходных и не связанных в композит УНТ определяли количество УНТ в композите. Полученный магнитный сорбент оставляли в колбе во влажном состоянии и использовали для изучения сорбции ионов металлов из водных растворов.

Для сопоставления сорбционного поведения использовали коммерческие активированные угли (АУ): древесный (БАУ) и синтетический (СКТ). Их окисление выполняли в условиях, идентичных окислению УНТ.

Состав синтезированных составляющих компонентов и УНТ@МНЧ изучали методом рентгенофазового анализа (D2 PHAZER, $\text{CoK}\alpha_1$ -излучение) в виде суспензии в вазелиновом масле. При расшифровке рентгенограмм использовали банк данных Power Diffraction File (PDF-2). Магнитные

свойства МНЧ и УНТ@МНЧ измеряли при комнатной температуре на вибрационном магнитометре EG&G Princeton applied research model 155. Морфологию образцов УНТ@МНЧ, в состав которых входили УНТ, полученные на различных катализаторах, исследовали с помощью просвечивающего электронного микроскопа JEOL JEM-2100 при ускоряющем напряжении 200 кВ.

При изучении сорбции ионов металлов из водных растворов в качестве исходных растворов исследуемых элементов использовали одноэлементные стандартные растворы (High Purity Standards) с концентрацией элементов 1000 мкг/мл. Рабочие растворы исследуемых элементов необходимой концентрации готовили разбавлением стандартных растворов деионизованной водой. Для построения изотерм сорбции и определения сорбционной емкости сорбента готовили серию растворов с концентрацией исследуемых элементов от 10 до 110 мкг/мл. Из каждого раствора отбирали аликвоту 25 мл и помещали в коническую колбу емк. 100 мл, где уже находилось 200 мг магнитного сорбента. Создавали нужное значение pH раствора (pH 5 для Cd(II) и pH 6 для остальных элементов) и перемешивали раствор с сорбентом на лабораторной качалке в течение 20 мин до достижения сорбционного равновесия. Необходимое значение pH создавали добавлением 10%-ного раствора NH_4OH или 5%-ной HNO_3 . После окончания процесса сорбции сорбент с извлеченными из раствора элементами удерживали в колбе магнитом, а раствор переносили в кварцевую чашку с 500 мг графитового порошка и выпаривали досуха под ИК-лампой для анализа и определения величины сорбции. Затем сорбированные ионы металлов элюировали с сорбента 5 мл 0.5 М HNO_3 в течение 15 мин при постоянном перемешивании. Далее сорбент вновь удерживали в колбе магнитом, а элюат сливали в другую кварцевую чашку с 500 мг графитового порошка, упаривали досуха под ИК-лампой и анализировали для определения полноты десорбции. Использовали графитовый порошок марки ос. ч. 8-4. Для определения метрологических характеристик химико-спектрального анализа использовали растворы объемом 50 мл с введенными определяемыми элементами. Концентрирование ионов металлов проводили в условиях сорбции и элюирования аналогично описанным выше операциям построения изотерм сорбции. Магнитный сорбент регенерировали путем обработки его в течение 15 мин 0.5 М HNO_3 и промыванием деионизованной водой.

В случае сорбции в динамическом режиме для приготовления колонки 80 мг магнитного сорбента УНТ@МНЧ насыпали во фторопластовую трубку длиной 30 и внутренним диаметром 2.5 мм через фторопластовую воронку, предварительно распо-

ложив под противоположным концом трубки, закрытым пробкой из стекловолокна, магнит. Закрывали другой конец колонки также пробкой из стекловолокна. Колонку промывали 1 М HNO_3 , затем деионизованной водой и 3 мл буферного раствора с pH 5.5–6.0. Анализируемый раствор пропускали через колонку со скоростью 2 мл/мин, используя перистальтический насос. Ионы металлов элюировали с колонки 5 мл 0.5 М HNO_3 . Элюат переносили в кварцевую чашку с 500 мг графитового порошка, упаривали досуха под ИК-лампой и анализировали. Содержание элементов в концентратах после элюирования и выпаривания на графитовом порошке определяли дуговым атомно-эмиссионным анализом (АЭА) (сила постоянного тока 10 А) на дифракционном спектрографе PGS-2 с решеткой 651 штр/мм, обеспечивающей обратную линейную дисперсию 0.74 нм/мм. Пробу набивали в кратер нижнего электрода (анода) глубиной и диаметром 4 мм, с толщиной стенок 1 мм. Конец верхнего электрода (катода) был заточен на конус. Расстояние между электродами составляло 4 мм. Использовали трехлинзовую систему освещения щели. Для регистрации эмиссионных спектров использовали фотоэлектрическую систему регистрации. Анализ выполняли, применяя государственные стандартные образцы на основе графитового порошка (комплект СОГ-21). Для расчета содержания элементов в растворе их концентрацию в графитовом коллекторе делили на коэффициент концентрирования, который определяли как соотношение масс анализируемого раствора и графитового порошка.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В наших предыдущих работах [7, 8] продемонстрированы особенности и перспективы использования углеродных наноматериалов (УНМ) в качестве сорбентов по отношению к различным ионам металлов. Приведены корреляции между физико-химическими свойствами УНМ и их морфологией, зависящей от различных факторов эксперимента. В настоящей работе на примере извлечения ионов токсичных и благородных металлов из водных растворов сделан акцент на сравнительном анализе возможностей различных УНМ и целесообразности их использования для решения той или иной практической задачи, а также более глубоком электронно-микроскопическом исследовании механизмов сорбции.

Выбор изучаемых сорбатов обусловлен актуальностью задач извлечения низких содержаний токсичных, а также благородных микроэлементов из геологических пород и различных технологических сред, в том числе в целях защиты окружающей среды. За последние годы опубликован ряд статей и обзоров [11–21], посвященных ТФЭ ионов токсичных металлов, в том числе кадмия [16, 17], свин-

ца [18–21] и хрома [22–24], на УНТ как для очистки водных сред, так и для пробоподготовки перед их определением различными методами. Токсичность кадмия и свинца для живых организмов широко известна. В то же время роль других элементов, например висмута, относящегося к группе умеренно токсичных, недостаточно хорошо изучена. Известно однако, что его растворимые соли ядовиты и по характеру своего воздействия на печень и почки аналогичны солям ртути [25]. Бериллий является высокотоксичным, канцерогенным и мутагенным элементом, приводящим в некоторых случаях к серьезному профессиональному заболеванию легких — бериллиозу [26]. Из-за недостаточной очистки сточных вод промышленных предприятий, производящих хромовые соли, в речных водоемах могут находиться ионы шестивалентного и трехвалентного хрома (более токсичного), что представляет опасность для рыб и других гидробиологических объектов.

Серебро, золото и палладий представляют интерес как с аналитической, так и с экологической точки зрения, причем для их извлечения из больших объемов растворов зачастую важен экономический фактор, связанный с максимальной емкостью сорбента. Так, в последнее время для очистки воды и микробиологического контроля используются фильтры, импрегнированные серебром в концентрациях от 50 до 200 нг/мл. Ионы серебра, обнаруженные в естественных водных источниках, могут также служить геохимическим индикатором серебросодержащих месторождений. С другой стороны, информация о продуктах взаимодействия серебра с жизненно важными компонентами, такими как витамин Е и В12, а также селеном и медью привлекает внимание из-за их предполагаемой токсичности [27]. Из-за невысокой распространенности и инертности токсичность благородных метал-

лов долгое время не рассматривали. Однако за счет их интенсивного применения в качестве катализаторов и различных присадок концентрация, например, палладия в окружающей среде значительно увеличилась, что привлекло внимание медиков и биологов. Так, установлено, что палладий является одним из сильнейших аллергенов [28]. Кроме того, по-прежнему актуально создание новых экономических методов анализа технологических растворов и геологических образцов. С этой точки зрения не утратил своего значения дуговой АЭА, не требующий растворения концентрата или дополнительного извлечения аналита.

Допустимое содержание токсических элементов в водах находится, как правило, на уровне пределов обнаружения большинства современных физико-химических методов анализа. Для их надежного определения требуется предварительное концентрирование, в том числе на современных углеродных наносорбентах, в сочетании с высокочувствительными и по возможности экономичными методами анализа. В связи с этим разработка эффективных способов концентрирования токсичных и благородных металлов на углеродных наносорбентах из различных сред с последующим дуговым АЭА представляется целесообразной. Следует отметить, что для извлечения сорбатов из больших объемов растворов зачастую наиболее важен экономический фактор, связанный с максимальной емкостью сорбента.

На рис. 1, 2 приведены изотермы сорбции исследованных элементов на предварительно окислительно модифицированных УНТ и синтезированном из них УНТ@МНЧ в сравнении с окисленными АУ. Сорбция как токсичных (рис. 1а, б), так и благородных металлов (рис. 2а, б) для всех элементов на УНТ и УНТ@МНЧ и существенно превышает сорбционную эффективность на уг-

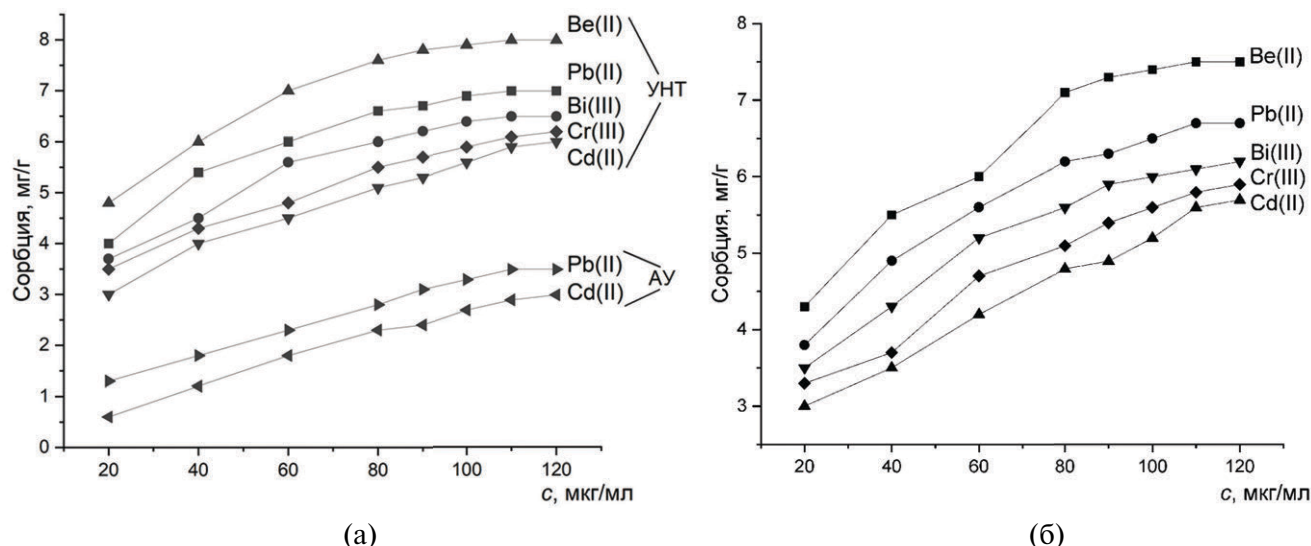


Рис. 1. Изотермы сорбции Be(II), Bi(III), Cd(II), Cr(II), Pb(II) на УНТ и АУ (а) и на УНТ@МНЧ (б) при pH 5 для Cd(II) и при pH 6 для остальных элементов; 25°C.

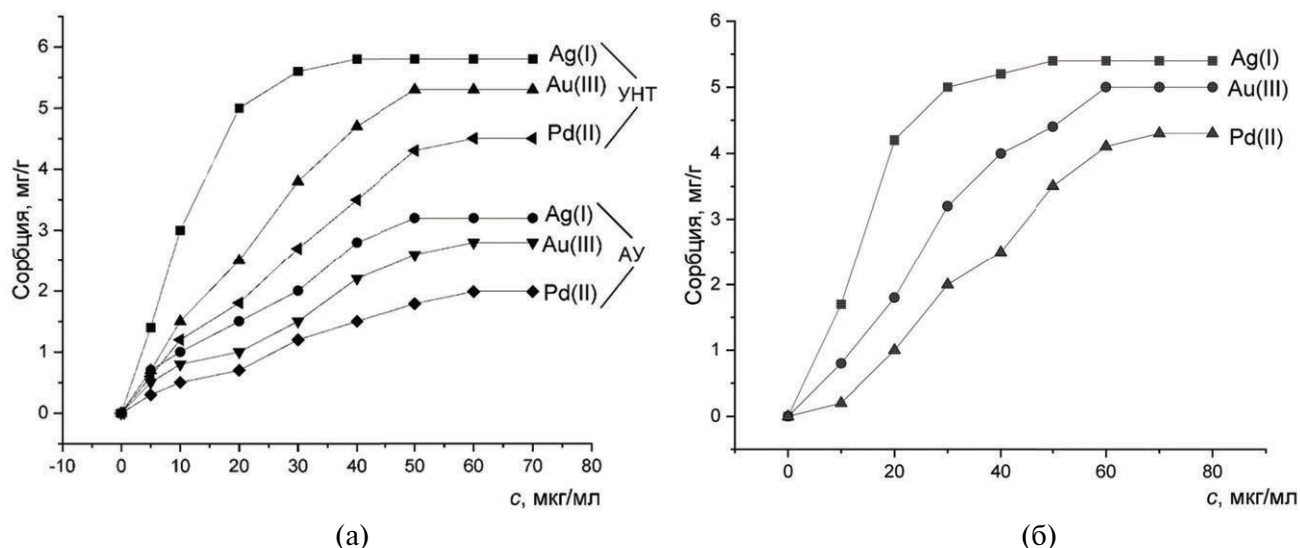


Рис. 2. Изотермы сорбции Ag(I), Au(III), Pd(II) на УНТ и АУ (а) и на УНТ@МНЧ (б) при pH 6, 25°C.

лях. Кроме того, важным преимуществом УНТ являются лучшие гидродинамические свойства, позволяющие, в отличие от активированных углей, работать в динамическом режиме сорбции.

Необходимо отметить, что литературные данные о сорбционной емкости активированных углей противоречивы и существенным образом зависят от марки угля, поэтому нами выполнена окислительная модификация и коммерческих АУ (БАУ и СКТ) в условиях, идентичных условиям модификации УНТ. Рис. 3 демонстрирует ИК-спектры углей до и после их обработки конц. HNO_3 . После обработки в ИК-спектре появляется линия поглощения при 1745 см^{-1} , которая относится к карбонильной группе, что подтверждает наличие введенных функциональных групп.

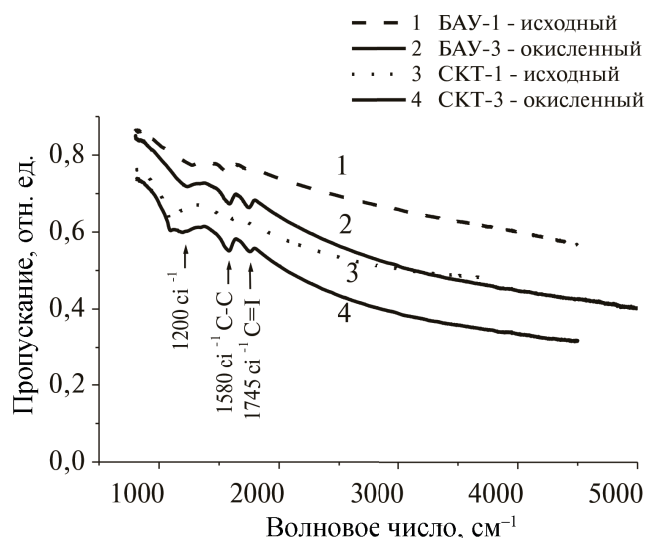


Рис. 3. Инфракрасные спектры коммерческих (БАУ-1, СКТ-1) и дополнительно окисленных (БАУ-3, СКТ-3) активных углей.

Ранее нами показано [7, 8], что способность к модификации УНТ, полученных методом CVD

с использованием катализаторов подгруппы железа, при прочих равных условиях (одном и том же модификаторе и способе обработки) существенно зависит от морфологии полученных образцов УНТ в следующем порядке: $\text{Ni} > \text{Co} > \text{Fe}$, что, в свою очередь, определяется условиями синтеза, в частности температурой и катализатором. Найдено, что УНТ(Ni), полученные на Ni-катализаторе при достаточно низкой температуре ($400\text{--}450^\circ\text{C}$), обладают максимальной способностью к окислительной модификации, максимальной сорбционной емкостью и оптимальной для заполнения хроматографической колонки дисперсией. Однако валовый выход продукта реакции при указанных условиях невелик. В то же время УНТ(Co) и УНТ(Fe), полученные на Co- и Fe-катализаторах, обладают рыхлой, “ватобразной” консистенцией. Их обработка кислотами затруднительна, в результате чего степень функционализации кислотами с введением кислородосодержащих групп и, следовательно, зависящая от нее сорбционная емкость этих сорбентов недостаточна. Ввиду высокой дисперсности и склонности к коагуляции сорбенты УНТ(Co) и УНТ(Fe) практически непригодны для работы как в статическом, так и в динамическом вариантах ТФЭ из-за сложности разделения фаз после сорбции, а также заполнения ими хроматографической колонки. В то же время синтез этих сорбентов при более высоких температурах перспективен для существенного повышения валового выхода реакции, что экономически более выгодно, чем получение УНТ(Ni), особенно для технологических целей. Для поиска компромисса предприняли дополнительную модификацию УНТ магнитными наночастицами (магнетитом) по методике, приведенной в “Экспериментальной части”. Рентгенофазовый анализ показал, что УНТ всех морфологий успешно взаимодействуют с МНЧ, образуя магнитные композиты, которые легко отделяются

от анализируемого раствора в постоянном магнитном поле. С помощью ПЭМ более детально исследовали структурные особенности магнитного композита, содержащего УНТ всех приведенных выше морфологий по отношению ко всем изученным элементам, и их корреляцию с его сорбционными возможностями. Как и следовало ожидать, морфология полученных композитов различается.

Из рис. 4а видно, что магнитные сорбенты, синтезированные с использованием УНТ(Ni), имеют значительно более шероховатую поверхность с многочисленными изгибами и переплетениями друг с другом и вариацией диаметра нанотрубок в широком диапазоне, от 10 до 300 нм. Трубки из УНТ(Fe) и УНТ(Co) (рис. 4б, в) имеют существенно более гладкую поверхность и более однородны в диаметре: от 80 до 140 нм (УНТ(Fe)) и от 30 до 80 нм (УНТ(Co)). При этом нанотрубки в УНТ@МНЧ(Fe) часто имеют спиральную форму. Из рис. 4 также видно, что магнитные наночастицы (черные точки) расположены, как правило, в местах изгибов и дефектов УНТ. Такие “подходящие” места для размещения наночастиц магнетита связаны с формой и структурой трубок, которые, в свою очередь, зависят от типа используемого катализатора для роста УНТ. Очевидно, что УНТ(Ni) имеют существенно больше таких мест. Наночастицы магнетита на нанотрубках могут быть

одиночными или образовывать несколько групп. В этих же местах могут сорбироваться и ионы аналита при электростатическом механизме сорбции. Во всех трех случаях для УНТ характерна плавно меняющаяся ориентация базисных плоскостей (0001) (“турбостратная структура”). Но ориентация плоскостей (0001) (которые являются наиболее плотно упакованными плоскостями в ГПУ-структуре) относительно оси УНТ заметно различается в зависимости от применяемого в синтезе катализатора. В образце УНТ@МНЧ(Ni) эти плоскости ориентированы в основном под большими углами, приближающимися к 90° , к поверхности оси нанотрубки (рис. 5а), тогда как в образцах УНТ@МНЧ(Co) и УНТ@МНЧ(Fe) (рис. 5б) этот угол существенно меньше. Это обстоятельство, влияющее на шероховатость поверхности исследуемых образцов, должно приводить к различию в адсорбции магнитных частиц и сорбатов и к их различной плотности на поверхности нанотрубок. Кроме того, различие в ориентации плоскостей (0001) может объяснить широкий диапазон диаметров трубок и их более простой вид в композите УНТ@МНЧ(Ni), а также более слабую связь с наночастицами магнетита. Ориентация плоскостей (0001) также может влиять на возможность образования канала вдоль оси нанотрубок. В исследованных образцах наблюдается формирование ка-

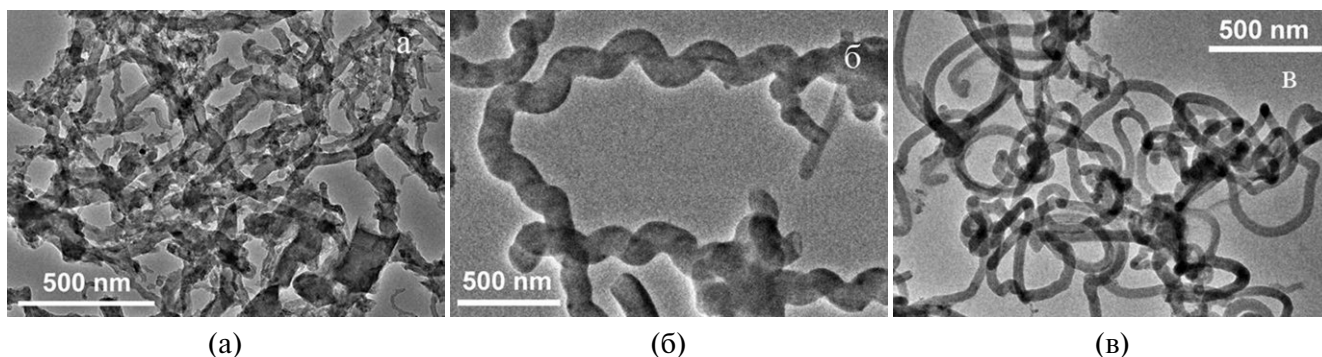


Рис. 4. ПЭМ-изображения композитов УНТ@МНЧ(Ni) (а), УНТ@МНЧ(Co) (б) и УНТ@МНЧ (в).

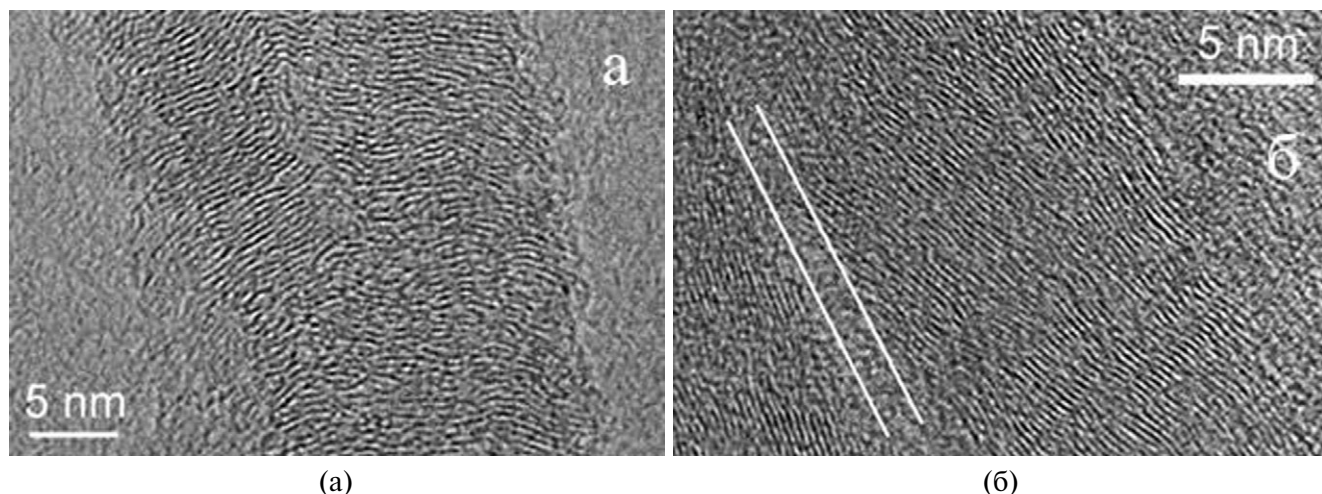


Рис. 5. ПЭМ-изображения решетки УНТ(Ni) (а) и УНТ(Co) (б).

налов в нанотрубках УНТ(Fe) и УНТ(Co), где плоскости (0001) ориентированы под меньшим углом к оси нанотрубок, в отличие от УНТ(Ni). Таким образом, взаимодействие между УНТ и МНЧ связано с изгибом нанотрубок и шероховатостью поверхности, которая, в свою очередь, зависит от внутренней структуры нанотрубок. Нанотрубки с более совершенной структурой дают менее благоприятные места для прикрепления МНЧ. Совершенство структуры связано с расположением базисных плоскостей (0001) относительно оси нанотрубки. Приведенное выше рассуждение может быть справедливым и для сорбции ионов исследованных металлов, поскольку одним из механизмов их взаимодействия с УНТ является физическая сорбция. Механизм сорбции ионов металлов на УНМ является предметом множества дискуссий, и к настоящему времени можно заключить, что он включает несколько физико-химических процессов. Так, например, механизм сорбции Pb(II) на УНТ как модельном элементе изучен в работе [21], где различными методами анализа показано, что вклад функциональных групп в сорбцию Pb(II) составляет 75.3 мас. % от общей сорбционной емкости. Остальные 24.7 мас. % обусловлены физической сорбцией, из которых 21.3 мас. % — электростатическим взаимодействием, а 3.4 мас. % осаждается в виде частиц PbO, PbCO₃ и Pb(OH)₂. В нескольких работах показано, что адсорбционное поведение тяжелых металлов на УНТ может быть описано либо изотермами Ленгмюра или Фрейндлиха [5], либо обеими вариантами [11]. Как показали наши предыдущие исследования [7], сорбционная емкость зависит от условий синтеза и обработки УНТ, а также от концентрации кислородсодержащих (–C = O, –COOH и др.) групп, которые введены на поверхность УНТ посредством функционализации с использованием конц. HNO₃. Полученные результаты можно объяснить ионным обменом между ионами металлов в водной фазе и протонами кислородсодержащих групп модифицированных УНТ.

В соответствии с морфологией композита меняются и его сорбционные свойства. Характер изотерм сорбции композитов всех морфологий аналогичен, однако значения их сорбционной емкости различаются. Из табл. 1 видно, что максимальным значением сорбции по всем элементам обладает композит УНТ@МНЧ(Ni), а минимальным — УНТ@МНЧ(Fe). Сорбционная емкость УНТ@МНЧ(Co) имеет промежуточное значение. Таким образом, как и в случае индивидуальных УНТ, сорбционная емкость композита тем выше, чем менее упорядочена и совершенна структура входящих в его состав УНТ. Тем не менее полученных величин сорбции композита, состоящего из УНТ любой морфологии, достаточно для успешного извлечения токсичных элементов из водных растворов с последующим разделением фаз после сорбции в постоянном магнитном поле. Измеренная при 25°C удельная намагниченность насыщения синтезированных частиц магнетита составляет 95 ем/г, что практически совпадает с табличным значением этой величины для монокристалла магнетита при 25°C — 92 ем/г*.

Аналогия в закономерности изменения сорбционных свойств индивидуальных УНТ и композитов в зависимости от морфологии указывает на основной вклад УНТ в сорбционные характеристики композита, поэтому соотношение УНТ и МНЧ в композите должно быть максимальным. С другой стороны, содержание в композите МНЧ должно обеспечить удержание магнитного композита в магнитном поле для его полного отделения от раствора. Для нахождения оптимального соотношения УНТ : МНЧ в композите изучили ряд композитов с соотношением УНТ : МНЧ от 1 : 1 до более чем 10 : 1. Установили, что состав композита полностью соответствует исходному соотношению компонентов, взятых для его синтеза, включая соотношение УНТ : МНЧ = 10 : 1, о чем свидетельствует прозрачность раствора после отделения от него композита. При превышении соотношения УНТ : МНЧ = 10 : 1 избыток УНТ не свя-

Таблица 1. Зависимость сорбционной емкости композита от типа катализатора синтеза углеродных нанотрубок (соотношение УНТ : МНЧ в каждом магнитном сорбенте равно 10 : 1, $n = 4$, $P = 0.95$)

Ион металла	УНТ(Ni)		УНТ(Co)		УНТ(Fe)	
	емкость, мг/г	s_T	емкость, мг/г	s_T	емкость, мг/г	s_T
Be(II)	8.0 ± 1.3	0.10	5.2 ± 0.8	0.10	4.5 ± 0.9	0.12
Bi(III)	7.0 ± 1.1	0.12	5.4 ± 1.1	0.13	4.6 ± 1.0	0.14
Cd(II)	6.2 ± 1.5	0.15	4.5 ± 1.0	0.15	3.9 ± 1.0	0.16
Cr(III)	6.7 ± 1.4	0.13	5.0 ± 1.1	0.14	3.8 ± 0.9	0.14
Pb(II)	6.5 ± 1.6	0.15	4.5 ± 1.0	0.15	4.2 ± 1.1	0.16
Ag(I)	6.0 ± 1.3	0.14	4.4 ± 0.9	0.13	3.6 ± 0.8	0.14
Au(III)	6.1 ± 1.6	0.16	4.0 ± 1.0	0.16	3.4 ± 0.9	0.16
Pd(II)	5.5 ± 1.3	0.15	3.9 ± 0.9	0.15	3.5 ± 0.9	0.16

зывается в композит, а остается в растворе в виде взвеси. Таким образом, оптимальное соотношение УНТ : МНЧ, обеспечивающее максимальную сорбционную емкость композита, составило 10 : 1. Именно при этом соотношении УНТ : МНЧ в композите сравнили сорбционную емкость различных углеродсодержащих сорбентов (табл. 2). Из таблицы видно, что сорбционная емкость углеродных сорбентов на основе УНТ в 1.5–2 раза превышает сорбционную емкость АУ. При этом сорбционная емкость магнитного сорбента УНТ@МНЧ с оптимальным соотношением УНТ : МНЧ лишь незначительно уступает сорбционной емкости индивидуальных УНТ, по-видимому, из-за уменьшения числа свободных сорбционных мест, занятых МНЧ.

К дополнительным возможностям использования магнитных сорбентов можно также отнести их преимущества при изготовлении пьезосенсоров для определения ципрофлоксацина и пенициллина [29, 30].

Содержание исследуемых элементов-примесей в водных растворах после их сорбции на углеродсодержащих сорбентах, последующего элюирования с сорбента и выпаривания элюата на графитовом коллекторе определяли по разработанным методикам дуговым АЭА. Для вычисления коли-

чества ионов металлов в анализируемом растворе их содержание в концентрате на графитовом порошке делили на коэффициент концентрирования ($K_{\text{конц}}$), который определяли как соотношение масс анализируемого раствора и графитового порошка, на котором выпаривался элюат. Установили, что для элюирования примесей с сорбента для всех элементов оптимально применение 5 мл 0.5 М HNO_3 . При меньшей концентрации HNO_3 происходит неполная десорбция элементов с сорбента, а ее увеличение приводит к росту содержания в элюате железа, что, в свою очередь, усложняет обработку атомно-эмиссионных спектров концентрата примесей. Полноту сорбции и десорбции исследуемых ионов металлов контролировали, сравнивая их концентрации в сливах и элюатах с концентрациями в модельных анализируемых растворах. Ранее нами показано [31], что значение этих величин для всех ионов металлов находится на уровне 93–96%.

Достигнутые пределы обнаружения ионов металлов в водных растворах приведены в табл. 3. При коэффициенте концентрирования $K_{\text{конц}} = 600$ они составляют 0.0001–0.0007 мг/л, что позволяет определять их в природных водах на уровне ниже ПДК (табл. 4). Величины c_{lim} оценивали по нижней точке градуировочного графика, найденной

Таблица 2. Сорбционная емкость углеродных сорбентов по отношению к ионам металлов (соотношение УНТ(Ni) : МНЧ в магнитном сорбенте равно 10 : 1, $n = 4$, $P = 0.95$)

Ион металла	УНТ(Ni)@МНЧ		УНТ(Ni)		АУ	
	емкость, мг/г	s_r	емкость, мг/г	s_r	емкость, мг/г	s_r
Be(II)	8.0 ± 1.3	0.10	8.5 ± 1.4	0.10	4.2 ± 0.8	0.12
Bi(III)	7.0 ± 1.1	0.12	7.5 ± 1.3	0.11	4.5 ± 0.8	0.11
Cd(II)	6.2 ± 1.5	0.15	6.8 ± 1.3	0.12	3.8 ± 0.8	0.13
Cr(III)	6.7 ± 1.4	0.13	6.0 ± 1.2	0.12	3.5 ± 0.7	0.12
Pb(II)	6.5 ± 1.6	0.15	7.0 ± 1.5	0.13	4.2 ± 0.9	0.13
Ag(I)	6.0 ± 1.3	0.14	6.5 ± 1.5	0.11	2.8 ± 0.7	0.13
Au(III)	6.1 ± 1.6	0.16	6.0 ± 1.3	0.14	2.5 ± 0.6	0.15
Pd(II)	5.5 ± 1.3	0.15	5.6 ± 1.2	0.13	2.0 ± 0.4	0.13

Таблица 3. Проверка правильности и пределы определения (c_{lim}) элементов-примесей в водных растворах дуговым атомно-эмиссионным методом после их предварительного концентрирования на магнитных сорбентах динамическим методом, ($n = 4$, $P = 0.95$, $K_{\text{конц}} = 600$)

Ион металла	Введено, мкг	Найдено, мкг	s_r	c_{lim} , мкг/мл
Be(II)	10.0	9.2 ± 1.4	0.10	0.0001
Bi(III)	10.0	9.5 ± 1.8	0.12	0.0003
Cd(II)	10.0	8.9 ± 2.1	0.15	0.0007
Cr(III)	10.0	9.0 ± 1.8	0.13	0.0001
Pb(II)	10.0	10.3 ± 2.4	0.15	0.0007
Ag(I)	10.0	9.2 ± 2.0	0.14	0.0003
Au(III)	10.0	8.8 ± 2.3	0.16	0.0001
Pd(II)	10.0	10.0 ± 1.9	0.15	0.0007

Таблица 4. Результаты анализа проб озерной и речной воды на содержание токсичных элементов методом дугового атомно-эмиссионного анализа после концентрирования ионов элементов-примесей на колонке с магнитным сорбентом УНТ@МНЧ (объем воды 300 мл, $n = 4$, $P = 0.95$)

Ион металла	Найдено, $c \times 10^2$, мкг/мл		ПДК $\times 10^2$, мкг/мл
	озерная вода	речная вода	
Be(II)	< 0.01	< 0.01	0.02
Bi(III)	2.7 ± 0.4	3.1 ± 0.5	5.0
Cd(II)	0.060 ± 0.008	0.08 ± 0.01	0.1
Cr(III)	0.85 ± 0.09	0.70 ± 0.08	5.0
Pb(II)	0.67 ± 0.08	0.52 ± 0.06	1.0

с приемлемой точностью [32]. Правильность полученных результатов проверяли методом введено—найдено. Полученные результаты (табл. 3) свидетельствуют об отсутствии систематической погрешности.

* * *

Таким образом, сравнение сорбции токсичных Be(II), Bi(III), Cd(II), Cr(III), Pb(II) и благородных Ag(I), Au(III) и Pd(II) из водных сред на УНМ показало существенное преимущество УНТ и магнитных композитов на их основе по сравнению с активированными углями. Хотя величина сорбции элементов на магнитном сорбенте немного уступает сорбции на УНТ, использование композита имеет несомненное преимущество за счет упрощения и повышения эффективности процедур разделения. Кроме того, возможность использования постоянного магнита в динамическом варианте МФТЭ позволяет заполнять сорбционные микроколонки магнитными сорбентами, содержащими УНТ различной морфологии. В свою очередь, использование в синтезе композитного сорбента УНТ всех морфологий значительно расширяет возможности его применения для решения как технологических, так и аналитических задач, что невозможно в случае индивидуальных УНТ(Со) и УНТ(Fe). К дополнительным возможностям использования магнитных сорбентов можно также отнести их преимущества при изготовлении пьезосенсоров. Детальное изучение механизма сорбции МНЧ на поверхности УНТ продемонстрировало его аналогию с сорбцией ионов металлов на индивидуальных УНТ в зависимости от морфологии трубок. Разработанные методики дугового АЭА для определения ионов токсичных и благородных металлов в водах после их концентрирования на изученных сорбентах демонстрируют низкие пределы определения элементов-примесей, хорошую сходимость и правильность результатов определений.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках госзадания № 075-00296-24-01.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Веденяпина М.Д., Курмышева А.Ю., Кряжев Ю.Г., Ершова В.А. Магнитные железосодержащие углеродные материалы как сорбенты для извлечения загрязнителей из водных сред (обзор) // Химия твердого топлива. 2021. № 5. С. 15.
2. Rao G.P., Lu C., Su F. Sorption of divalent metal ions from aqueous solution by carbon nanotubes: A review // Sep. Purif. Technol. 2007. V. 58. P. 224.
3. Pyrzynska K. Recent advances in solid-phase extraction of platinum and palladium // Talanta. 1998. V. 47. P. 841.
4. Kilian K., Pyrzyńska K., Pegier M. Comparative study of Sc(III) sorption onto carbon-based materials // Solvent Extr. Ion Exch. 2017. V. 5. № 6. P. 450.
5. Tofighy M.A., Mohammadi T. Adsorption of divalent heavy metal ions from water using carbon nanotube sheets // J. Hazard. Mater. 2011. V. 185. P. 140.
6. Раков Э.Г. Магнитные углеродные наноматериалы // Приборы. 2015. № 9. С. 38.
7. Гражулене С.С., Редькин А.Н., Телегин Г.Ф., Баженов А.В., Фурсова Т.Н. Сорбционные свойства углеродных нанотрубок в зависимости от температуры их синтеза и последующей обработки // Журн. аналит. химии. 2010. Т. 65. № 7. С. 699. (Grazhulene S.S., Red'kin A.N., Telegin G.F., Bazhenov A.V., Fursova T.N. Adsorption properties of carbon nanotubes depending on the temperature of their synthesis and subsequent treatment // J. Anal. Chem. 2010. V. 65. № 7. P. 682.)
8. Гражулене С.С., Редькин А.Н., Телегин Г.Ф. Исследование корреляций между физико-химическими свойствами углеродных нанотрубок и типом катализатора для их синтеза // Журн. аналит. химии. 2012. Т. 67. № 5. С. 479. (Grazhulene S.S., Red'kin A.N., Telegin G.F. Study of correlations between the physicochemical properties of carbon nanotubes and the type of catalyst

- used for their synthesis // *J. Anal. Chem.* 2012. V. 67. № 5. P. 423.)
9. *Редькин А.Н., Кипин В.А., Мальярович Л.В.* Синтез углеродных волокнистых наноматериалов из паров этанола на никелевом катализаторе // *Неорг. материалы.* 2006. Т. 42. № 3. С. 284. (*Red'kin A.N., Kipin V.A., Malyarevich L.V.* Synthesis of fibrous carbon nanomaterials from ethanol vapor on a nickel catalyst // *Inorg. Mater.* 2006. V. 42. № 3. P. 242.)
 10. *Faraji M., Yamini Y., Rezaee M.* Magnetic nanoparticles: Synthesis, stabilization, functionalization, characterization, and application // *J. Iran. Chem. Soc.* 2010. V. 7. № 1. P. 1.
 11. *Stafiej A., Pyrzynska K.* Adsorption of heavy metal ions with carbon nanotubes // *Separ. Purif. Technol.* 2007. V. 58. P. 49.
 12. *Pyrzynska K.* Use of nanomaterials in sample preparation // *Trends Anal. Chem.* 2013. V. 43. P. 100.
 13. *Liang X., Liu S., Wang S., Guo Y., Jiang S.* Carbon-based sorbents: Carbon nanotubes // *J. Chromatogr. A.* 2014. V. 1357. P. 53.
 14. *Hongwei Pang, Yihan Wu, Xiangxue Wang, Baowei Hu, Xiangke Wang* Recent advances in composites of grapheme and layered double hydroxides for water remediation // *Chem. Asian J.* 2019. V. 14. P. 542.
 15. *Xiangxue Wang, Xing Li, Jiaqi Wang, Hongtao Zhu* Recent advances in carbon nitride-based nanomaterials for the removal of heavy metal ions from aqueous solution // *J. Inorg. Mater.* 2020. V. 35. P. 260.
 16. *Li Y.H., Wang S., Luan Z., Ding J., Xu C., Wu D.* Adsorption of cadmium (II) from aqueous solution by surface oxidized carbon nanotubes // *Carbon.* 2003. V. 41. P. 1057.
 17. *Cho H.H., Wepasnick K., Smith B.A., Bangash F.K., Fairbrother D.H., Ball W.P.* Sorption of aqueous Zn(II) and Cd(II) by multiwalled carbon nanotubes: The relative roles of oxygen-containing functional group and graphenic carbon // *Langmuir.* 2010. V. 26. P. 967.
 18. *Li Y.H., Wang S., Wei J., Zhang X., Xu C., Luan Z., Wu D., Wie B.* Lead adsorption on carbon nanotubes // *Chem. Phys. Lett.* 2002. V. 357. P. 263.
 19. *Li Y.H., Di Z., Ding J., Wu D., Luan Z., Zhu Y.* Adsorption thermodynamic, kinetic and desorption studies of Pb^{2+} on carbon nanotubes // *Water Res.* 2005. V. 39. P. 605.
 20. *Shao D.D., Ren X.M., Hu J., Chen Y.X., Wang X.K.* Preconcentration of Pb^{2+} from aqueous solution using poly(acrylamide) and poly(N,N-dimethylacrylamide) grafted multiwalled carbon nanotubes // *Colloids Surf. A.* 2010. V. 360. P. 74.
 21. *Wang H.J., Zhou A.L., Peng F., Yu H., Yang J.* Mechanism study on adsorption of acidified multiwalled carbon nanotubes to Pb(II) // *J. Colloid Interface Sci.* 2007. V. 316. P. 277.
 22. *Chen S., Zhu L., Lu D., Chen X., Zhou X.* Separation and chromium speciation by single-wall carbon nanotubes microcolumn and inductively coupled plasma mass spectrometry // *Microchim. Acta.* 2010. V. 169. P. 123.
 23. *Hu J., Chen C., Zhu X., Wang X.* Removal of chromium from aqueous solution by using oxidized multiwalled carbon nanotubes // *J. Hazard. Mater.* 2009. V. 162. P. 1542.
 24. *Tuzen M., Soylak M.* Multiwalled carbon nanotubes for speciation of chromium in environmental samples // *J. Hazard Mater.* 2007. V. 147. P. 219.
 25. *Израэльсом З.И., Могилевская О.Я. и Суворов С.В.* Вопросы гигиены труда и профессиональной патологии при работе с редкими металлами. М.: Медицина, 1973. С. 78.
 26. *Everest D.A.* The Chemistry of Beryllium. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1964. 151 p.
 27. *Ding Q., Liang P., Song F., Xiang A.M.* Separation and preconcentration of silver ion using multiwalled carbon nanotubes as solid phase extraction sorbent // *Separ. Sci. Technol.* 2006. V. 41. P. 2723.
 28. *Pyrzynska K.* Recent advances in solid-phase extraction of platinum and palladium // *Talanta.* 1998. V. 47. P. 841.
 29. *Бизина Е.В., Фарафонова О.В., Золотарева Н.И., Гражулене С.С., Ермолаева Т.Н.* Пьезоэлектрический иммуносенсор на основе магнитных углеродных нанокомпозитов для определения ципрофлоксацина // *Журн. аналит. химии.* 2022. Т. 77. № 4. С. 375. (*Bizina E.V., Farafonova O.V., Zolotareva N.I., Grazhulene S.S., Ermolaeva T.N.* A Piezoelectric immunosensor based on magnetic carbon nanocomposites for the determination of ciprofloxacin // *J. Anal. Chem.* 2022. V. 77. № 4. P. 456.)
 30. *Бизина Е.В., Фарафонова О.В., Золотарева Н.И., Гражулене С.С., Ермолаева Т.Н.* Применение магнитных углеродных нанокомпозитов при формировании распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора для определения пенициллина // *Журн. аналит. химии.* 2023. Т. 78. № 4. С. 354. (*Bizina E.V., Farafonova O.V., Zolotareva N.I., Grazhulene S.S., Ermolaeva T.N.* Use of magnetic carbon nanocomposites in the formation of a recognition layer of a piezoelectric immunosensor for the determination of penicillin G // *J. Anal. Chem.* 2023. V. 78. № 4. P. 488.)
 31. *Гражулене С.С., Золотарева Н.И., Редькин А.Н., Шилкина Н.Н., Митина А.А., Колесникова А.М., Ходос И.И.* Сорбционные свойства магнитного композита на основе модифицированных углеродных нанотрубок в зависимости от условий синтеза // *Журн. прикл. химии.* 2020. Т. 93. № 1. С. 66. (*Grazhulene S.S., Zolotareva N.I., Redkin A.N., Shilkina N.N.,*

- Mitina A.A., Kolesnikova A.M., Khodos I.I.* Sorption properties of a magnetic composite based on modified carbon nanotubes: Influence of the synthesis conditions // *J. Appl. Chem.* 2020. V. 93. № 1. P. 57.)
32. Экспериандова Л.П., Беликов К.Н., Химченко С.В., Бланк Т.А. Еще раз о пределах обнаружения и определения // *Журн. аналит. химии.* 2010. Т. 65. № 3. С. 229. (*Eksperiandova L.P., Belikov K.N., Khimchenko S.V., Blank T.A.* Once again about determination and detection limits // *J. Anal. Chem.* 2010. V. 65. № 3. P. 223.)

EFFECTIVENESS OF SORBENTS WITH VARIOUS ALLOTROPIC FORMS OF CARBON, INCLUDING MODIFIED CARBON NANOTUBES

S.S. Grazhulene^a, N.I. Zolotareva^a, *, I.I. Hodos^a

^a*Institute of Problems of Microelectronics Technology and High-Purity Materials of the Russian Academy of Sciences*

6 Akademika Osipyan Str., Chernogolovka, 142432 Russia

** E-mail: zol@iptm.ru*

Abstract. The sorption of ions of toxic Be(II), Bi(III), Cd(II), Cr(III), Pb(II) and noble metals Ag(I), Au(III) and Pd(II) from aqueous media on carbon nanotubes, (CNT), a magnetic nanosorbent consisting of from CNTs and magnetic nanoparticles of magnetite, (CNT@MNP), as well as activated carbon (AC). The advantage in the capacity of sorbents with CNT compared to AC is demonstrated by about 1.5–2 times. The dependence of the sorption capacity of the synthesized magnetic sorbent on the morphology of CNTs obtained on catalysts of the iron subgroup: Ni — CNT(Ni), Co. — CNT(Co) and Fe — CNT(Fe) was found. The advantage of CNT@MNP in comparison with other carbon sorbents in the separation of solid and liquid phases by magnetic solid-phase extraction is shown, as well as the cost-effectiveness of composite sorbents containing CNT(Co) and CNT(Fe), which, when individually used as sorbents, do not give satisfactory results. Using the studied carbon sorbents, methods have been developed and metrological characteristics of the determination of elements in aqueous solutions by the method of arc atomic emission analysis are presented.

Keywords: carbon sorbents, magnetic sorbents, magnetic solid-phase extraction, sorption of ions of noble and toxic metals.

УДК 543.05, 543.3, 543.4

Посвящается 300-летию Санкт-Петербургского государственного университета

МИЦЕЛЛЯРНАЯ МИКРОЭКСТРАКЦИЯ НА ОСНОВЕ АЛКИЛПОЛИГЛИКОЗИДОВ ДЛЯ КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ И СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФОСФАТ-ИОНОВ В ВОДНЫХ СРЕДАХ

© 2024 г. И. И. Тимофеева^{а, *}, М. А. Кочеткова^а, Д. Д. Двойных^б, Я. В. Сафинская^а, Е. А. Зубакина^б,
А. В. Булатов^а

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

^бСанкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
ул. Профессора Попова, 14, лит. А, 197376 Санкт-Петербург, Россия

* E-mail: i.i.timofeeva@spbu.ru

Поступила в редакцию 13.05.2024 г.

После доработки 26.05.2024 г.

Принята к публикации 28.05.2024 г.

Разработан способ мицеллярной микроэкстракции для концентрирования и спектрофотометрического определения фосфат-ионов в водных средах, основанный на образовании восстановленной формы молибдофосфорной гетерополикислоты и ее выделении из водной фазы в супрамолекулярный растворитель. При этом *in situ* образование фазы супрамолекулярного растворителя происходит при введении в водную фазу амфифила и агента коацервации. Изучена возможность применения в качестве амфифила биоразлагаемого алкилполиглицозида (C₈–C₁₀), а в качестве агентов коацервации — карбоновых кислот. Показано, что в кислой среде, необходимой для образования восстановленной формы молибдофосфорной гетерополикислоты, происходит выделение фазы супрамолекулярного растворителя. Максимальная оптическая плотность экстракта наблюдается при введении пивалево́й кислоты в качестве агента коацервации. Предел обнаружения (3σ) фосфат-ионов составил 5 мкг/л. Способ является экологически безопасным и не требует применения дорогостоящего оборудования.

Ключевые слова: мицеллярная микроэкстракция, супрамолекулярные растворители, алкилполиглицозиды, спектрофотометрия, фосфат-ионы, водные среды.

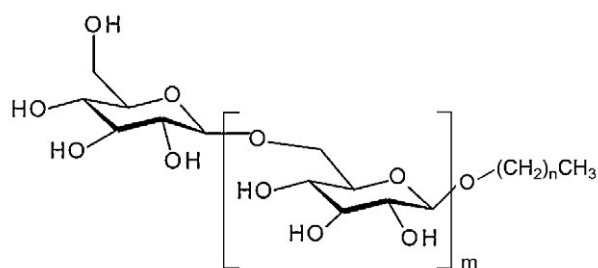
DOI: 10.31857/S0044450224100032, EDN: TFOKFT

Среди методов разделения и концентрирования особое внимание уделяют мицеллярной микроэкстракции (ММЭ) как экологически безопасной альтернативе классической жидкостно-жидкостной экстракции. Метод ММЭ предполагает введение в водную фазу амфифилов — поверхностно-активных веществ (ПАВ) в концентрации выше критической концентрации мицеллообразования, что приводит к самоорганизации их молекул с образованием мицелл и везикул. При изменении условий в экстракционной системе, например при повышении температуры или введении электролитов или полярных растворителей, наблюдается явление

коацервации — агрегация мицелл и везикул в более крупные частицы — коацерваты. Коацерваты захватывают аналиты и выделяются в отдельную фазу супрамолекулярного растворителя. Образование фазы супрамолекулярного растворителя происходит *in situ* в пробе, что способствует быстрому массопереносу аналитов в фазу экстрагента и обеспечивает высокую эффективность экстракции [1]. Мицеллярная микроэкстракция нашла широкое применение для концентрирования неорганических и органических аналитов и легко сочетается со спектральными и хроматографическими методами анализа [2]. Метод характеризуется простотой, высокой эффективностью с точки зрения до-

стигаемых коэффициентов концентрирования и возможностью автоматизации [3–8].

В качестве экологически безопасных амфифилов для ММЭ показана возможность применения алкилполигликозидов (АПГ) [9], которые представляют собой биоразлагаемые неионогенные ПАВ природного происхождения, являющиеся производными глюкозы и жирных спиртов (схема 1) [10]. На сегодняшний день АПГ нашли применение для концентрирования и хроматографического определения только органических аналитов — антибактериальных лекарственных веществ [11] и адреналина [9] в биологических жидкостях.



m — число остатков глюкозы
n — число углеродных атомов в алкильной цепи

Схема 1. Структурная формула алкилполигликозидов.

В настоящем исследовании изучена возможность сочетания ММЭ на основе АПГ со спектрофотометрическим методом анализа. Аналитические возможности предложенного подхода показаны на примере концентрирования и спектрофотометрического определения фосфат-ионов в водных средах. Фосфор является биогенным элементом. Основная и наиболее биодоступная форма фосфора в природных водах — фосфат-ионы, которые образуются естественным образом в процессе распада останков живых организмов и растворения горных пород [12]. Кроме того, широкое применение фосфатов в составе удобрений, пищевых добавок и компонентов моющих средств приводит к их поступлению в природные воды. Избыток фосфат-ионов в воде нарушает биоценоз и ускоряет процесс эвтрофикации водоемов [13], поэтому определение содержания фосфат-ионов в водных средах является важной задачей контроля их качества.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Рабочие растворы фосфат-ионов готовили непосредственно перед экспериментом путем последовательного разбавления материала стандартного образца (СО) состава водного раствора фосфат-ионов (ГСО 7018-93, ООО “ЦСОВВ”, Россия) деионизованной водой. Растворы силикат-ионов готовили разбавлением СО раствора силиката натрия в 0.1 моль/л растворе гидроксида натрия (ГСО 8934-2008, ООО

“ЭКРОСХИМ”, Россия) деионизованной водой. Раствор реагентов для образования молибдофосфорной гетерополиоксикислоты (ГПК) готовили смешением 10 мл 11%-ного раствора молибдата аммония, 30 мл 30%-ного раствора азотной кислоты и 10 мл 0.35%-ного раствора антимолибдартрата калия [14]. Раствор реагентов для образования молибдованадиевофосфорной ГПК готовили смешением 10 мл 5%-ного раствора молибдата аммония, 10 мл 0.25%-ного раствора ванадата аммония, 10 мл 20%-ного раствора азотной кислоты [15]. Растворы реагентов для образования ГПК хранили в емкостях из темного стекла при 4°C в течение не более двух месяцев. Раствор аскорбиновой кислоты (100 г/л) готовили непосредственно перед экспериментом при растворении навески реагента (Sigma-Aldrich, США) в деионизованной воде. Коммерчески доступный АПГ (сеС8–сеС10, 50%) приобретали у компании “UTS” (Россия). Рабочий раствор АПГ (12%) готовили путем разбавления исходного раствора деионизованной водой, содержащей винную кислоту (1%) для устранения мешающего влияния силикат-ионов. Хлорид натрия, муравьиную, уксусную, пропионовую, масляную, пивалевую, гексановую, гептановую, октановую и винную кислоты приобретали у компании “Вектон” (Россия). Для разбавления фазы супрамолекулярного растворителя перед спектрофотометрическим измерением использовали изопропиловый спирт (ЭКОС-1, Россия). Все реактивы имели квалификацию не ниже ч. д. а.

Пробы воды (морская из Балтийского моря, г. Зеленоградск, Калининградская обл.; колодезная и речная, Ленинградская обл.) отбирали вручную в чистые полимерные емкости с плотно закрывающимися крышками. Пробы консервировали путем добавления 4 мл хлороформа на 1 л пробы воды. Емкости с пробами хранили в темноте при 4°C в течение не более трех суток [14]. Перед проведением анализа пробы воды перемешивали и фильтровали через бумажный фильтр “синяя лента” (ЛенРеактив, Россия).

Кислотность измеряли иономером рН-метром-милливольтметром рН-410, (Аквион, Россия), оснащенным комбинированным электродом ЭСЛК-01.7 (Аквион, Россия). Фазы разделяли при помощи лабораторной центрифуги ОПН-8 (ТНК “Дастан”, Россия). Для измерения оптической плотности применяли спектрофотометр UV mini-1240 (Shimadzu, Япония), оснащенный кварцевой кюветой с длиной оптического пути 10 мм SUPRASIL (Hellma Analytics, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве аналитических форм для ММЭ и спектрофотометрического определения фосфат-ионов изучали различные по составу ГПК: молибдофосфорную и молибдованадиевофосфорную.

Состав ГПК может влиять как на величину молярного коэффициента светопоглощения, так и на степень извлечения аналитической формы в мицеллярную фазу. На предварительном этапе установили, что ГПК переходят в фазу супрамолекулярного растворителя, который образуется при введении в водную фазу алкилполигликозида (C_8-C_{10}) и высшей карбоновой кислоты.

Для получения ГПК в полимерную пробирку помещали 1.8 мл раствора фосфат-ионов с концентрацией 0.1 мг/л, добавляли 70 мкл раствора реагентов и перемешивали. Раствор реагентов для образования молибдофосфорной ГПК представлял собой смесь молибдата аммония (2.2%), антимолибдартрата калия (0.07%) и азотной кислоты (18%) [14]. Для получения молибдованадиевофосфорной ГПК использовали водный раствор молибдата аммония (1.7%), ванадата аммония (0.08%) и азотную кислоту (6.7%) [15]. Далее добавляли 40 мкл раствора аскорбиновой кислоты с концентрацией 100 г/л, перемешивали и термостатировали в течение 20 мин при комнатной температуре [14]. Затем добавляли 1.2 мл раствора АПГ (12%), а также 210 мкл гептановой кислоты в качестве агента коацервации и перемешивали экстракционную систему в течение 1 мин. Для разделения фаз экстракционную систему центрифугировали в течение 5 мин при 5000 об/мин. Поскольку мицеллярная фаза (экстракт) была вязкой и непрозрачной, перед выполнением спектрофотометрических измерений ее разбавляли изопропиловым спиртом в 1.2 раза. Спектры поглощения полученных экстрактов, а также водных растворов ГПК до проведения экстракции представлены на рис. 1. В случае молибдофосфорной ГПК (рис. 1а) максимумы светопоглощения водного раствора и экстракта совпадают (800 нм). В случае молибдованадиевофосфорной ГПК (рис. 1б) при переходе от водного раствора к мицеллярной фазе АПГ наблюдается небольшой батохромный сдвиг. Максимумы светопогло-

щения водной и органической фаз составляют 790 и 800 нм соответственно. Наиболее высокое значение оптической плотности наблюдали в случае молибдофосфорной ГПК при 800 нм, которую выбрали в качестве аналитической формы для дальнейших исследований.

Нагревание реакционной смеси влияет на скорость протекания фотометрической реакции и, следовательно, на производительность анализа. Влияние температуры на скорость реакции исследовали в диапазоне от 25 до 85°C. Установили, что оптические плотности в интервале температур от 25 до 65°C существенно не отличаются (рис. 2а), однако нагревание приводит к увеличению скорости фотометрической реакции. При повышении температуры до 75°C и выше оптическая плотность значительно снижается, что может свидетельствовать о разрушении аналитической формы.

Время термостатирования влияет на полноту протекания фотометрической реакции и, как следствие, на достигаемый предел обнаружения. Для исследования выбрали интервал от 5 до 20 мин. Как видно из рис. 2б, при 45°C наибольшее значение оптической плотности достигается при нагревании реакционной смеси в течение 15 мин. Это время выбрали в качестве оптимального. При дальнейшем нагревании смеси аналитический сигнал уменьшается, что связано с разрушением аналитической формы.

Коацервация мицелл на основе АПГ происходит при добавлении агента коацервации — карбоновой кислоты [16]. Агент коацервации встраивается в состав мицелл, увеличивая их размеры и вызывая выделение фазы супрамолекулярного растворителя. В свою очередь природа карбоновой кислоты влияет на гидрофобность супрамолекулярного растворителя и его сродство к аналитической форме. В качестве агентов коацервации изучали муравьиную, уксусную, пропионовую, мас-

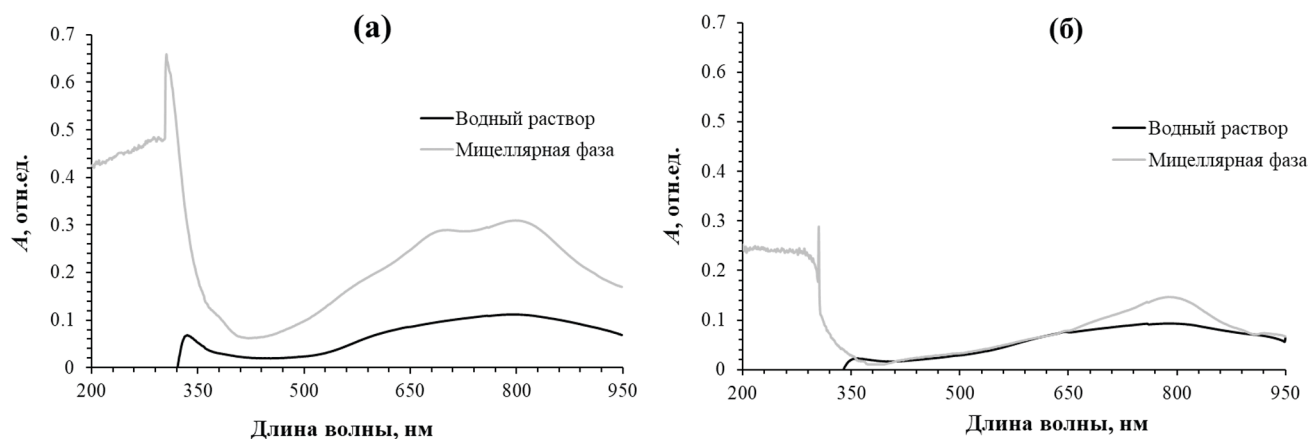


Рис. 1. Спектры гетерополиокислот в водном растворе и в мицеллярной фазе (концентрация фосфат-ионов 0.1 мг/л, агент коацервации — гептановая кислота, $n = 3$). (а) — молибдофосфорная ГПК; (б) — молибдованадиевофосфорная ГПК.

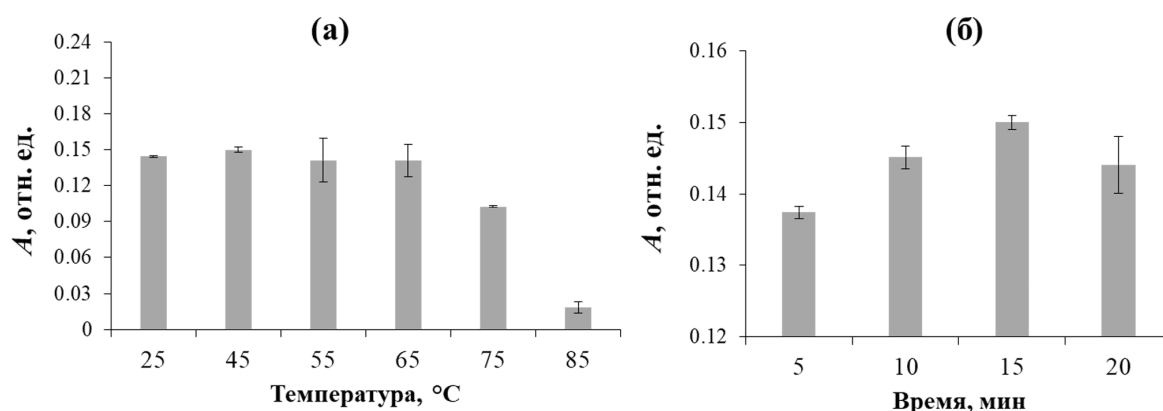


Рис. 2. Выбор условий образования молибдофосфорной гетерополиокислоты (концентрация фосфат-ионов 0.1 мг/л, агент коацервации — гептановая кислота, $n = 3$). (а): Влияние температуры нагревания реакционной смеси на оптическую плотность экстракта (время нагревания 20 мин). (б): Влияние времени образования аналитической формы на величину оптической плотности экстракта (температура нагревания 45°C).

ляную, пивалевую, гексановую, гептановую и октановую кислоты. Добавление муравьиной, уксусной, пропионовой и масляной кислот в экстракционную систему не приводит к образованию фазы супрамолекулярного растворителя. Установили

(рис. 3а), что эффективность экстракции молибдофосфорной ГПК максимальна в случае использования пивалевой кислоты и уменьшается с увеличением длины углеродной цепи карбоновой кислоты. Чем больше длина углеродной цепи в карбоно-

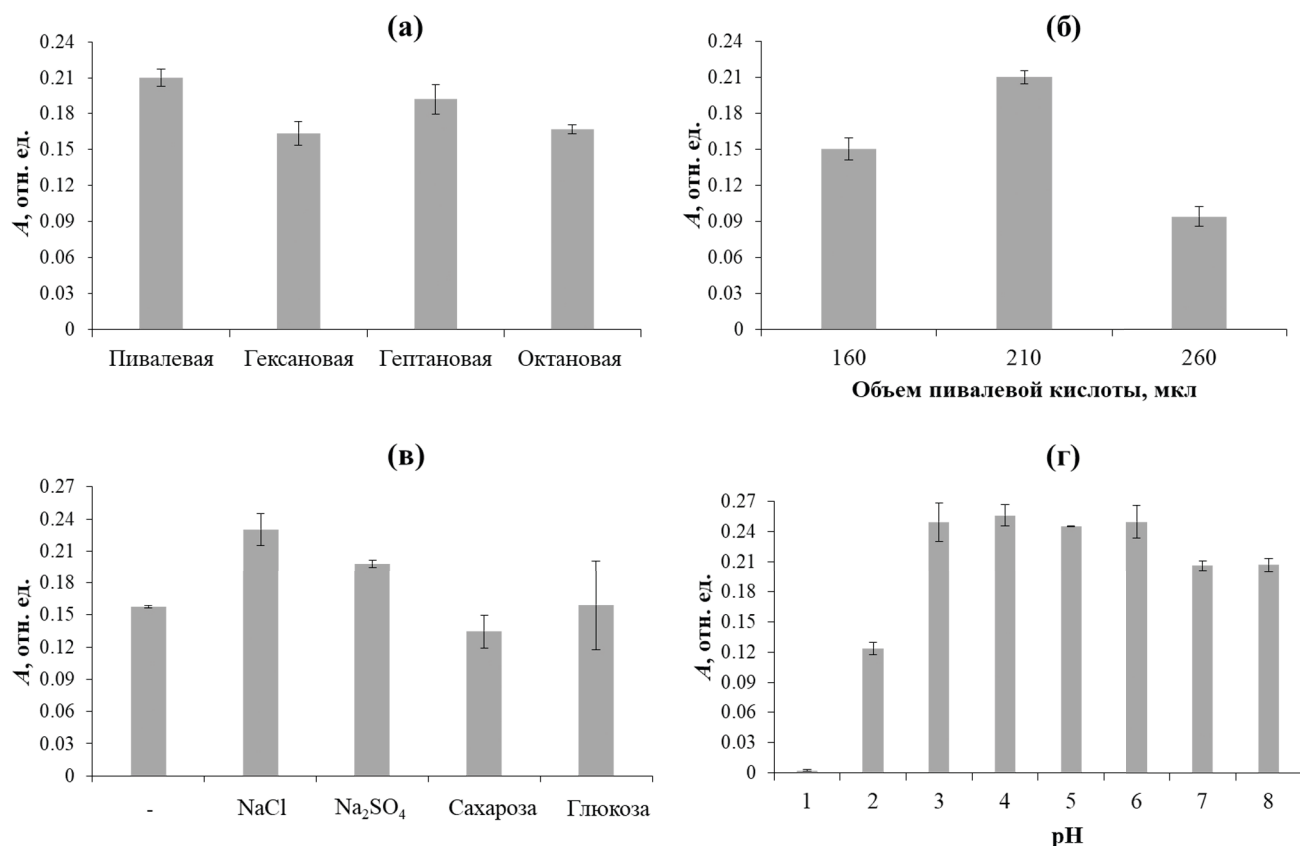


Рис. 3. Выбор условий микроэкстракционного выделения аналитической формы (концентрация фосфат-ионов 0.1 мг/л, нагревание реакционной смеси при 45°C в течение 15 мин, $n = 3$). (а): Влияние природы агента коацервации на величину аналитического сигнала (объем агента коацервации 210 мкл); (б): влияние объема пивалевой кислоты в качестве агента коацервации на величину аналитического сигнала; (в): влияние природы высаливающего и высахаривающего агентов на величину аналитического сигнала (агент коацервации — пивалевая кислота, объем пивалевой кислоты 210 мкл); (г): влияние pH пробы на величину аналитического сигнала (агент коацервации — пивалевая кислота, объем пивалевой кислоты 210 мкл, высаливающий агент — NaCl, концентрация NaCl 10%).

вой кислоте, тем более гидрофобной является образующаяся фаза супрамолекулярного растворителя. Молибдофосфорная ГПК — полярное соединение, хорошо растворимое в воде, поэтому наибольшим сродством к аналитической форме обладает наименее гидрофобная мицеллярная фаза, содержащая пивалевую кислоту.

Количество добавляемой карбоновой кислоты в качестве агента коацервации влияет на объем образующейся фазы супрамолекулярного растворителя и, как следствие, на достигаемые коэффициенты концентрирования. Объем пивалевой кислоты менее 90 мкл не вызывает выделения мицеллярной фазы. Изучено влияние объема пивалевой кислоты на достигаемую оптическую плотность в диапазоне от 160 до 260 мкл. Из рис. 3б видно, что значение аналитического сигнала максимально при объеме пивалевой кислоты 210 мкл, который выбрали для дальнейших исследований.

Для увеличения степени извлечения аналитической формы и лучшего разделения фаз исследовали влияние различных высаливающих агентов, таких как хлорид натрия и сульфат натрия, и высаливающих агентов, таких как глюкоза и сахароза, на эффективность экстракции. Для этого после термостатирования реакционной смеси к ней добавляли навеску исследуемого агента таким образом, чтобы его концентрация в растворе составила 10%. Наиболее высокая эффективность экстракции наблюдалась в случае использования хлорида натрия в качестве высаливающего агента (рис. 3в). Концентрацию высаливающего агента в растворе варьировали в диапазоне от 5 до 15 мас. %. При концентрации более 10 мас. % высаливающий агент практически не влияет на извлечение аналитической

формы. Для дальнейших исследований выбрали концентрацию 10 мас. %.

Образование ГПК возможно только в кислой среде. В нейтральной и щелочной средах происходит гидролиз ГПК [17]. Влияние кислотности исходной пробы на эффективность образования и извлечения аналитической формы исследовали в интервале pH от 1.0 до 8.0. Для этого перед проведением анализа pH пробы доводили до нужного значения добавлением растворов соляной кислоты и гидроксида натрия. После этого получали ГПК в растворе и выполняли ММЭ. В диапазоне pH пробы от 3.0 до 8.0 не наблюдали существенного изменения оптической плотности экстрактов (рис. 3г). Возможность анализа пробы с pH от 3.0 до 8.0 обусловлена тем, что в растворе реагентов для образования ГПК содержится азотная кислота (18%), обеспечивающая необходимую кислотность реакционной смеси ($\text{pH} < 1$) для образования ГПК [17].

Известно, что в природных водах могут присутствовать силикат-ионы, которые также образуют ГПК и мешают определению фосфат-ионов. Для устранения мешающего влияния силикат-ионов изучили возможность добавления винной кислоты непосредственно в раствор АПГ [18]. Провели серию экспериментов с растворами фосфат-ионов с фиксированной концентрацией 0.1 мг/л, содержащими добавки силикат-ионов в диапазоне от 0.1 до 20 мг/л. Аналитический сигнал изменялся более чем на 5% относительно раствора, полученного в эксперименте без добавления мешающих ионов, при концентрации силикат-ионов, превышающей 1 мг/л (рис. 4).

Таким образом, разработан способ определения фосфат-ионов в природных водах (рис. 5).

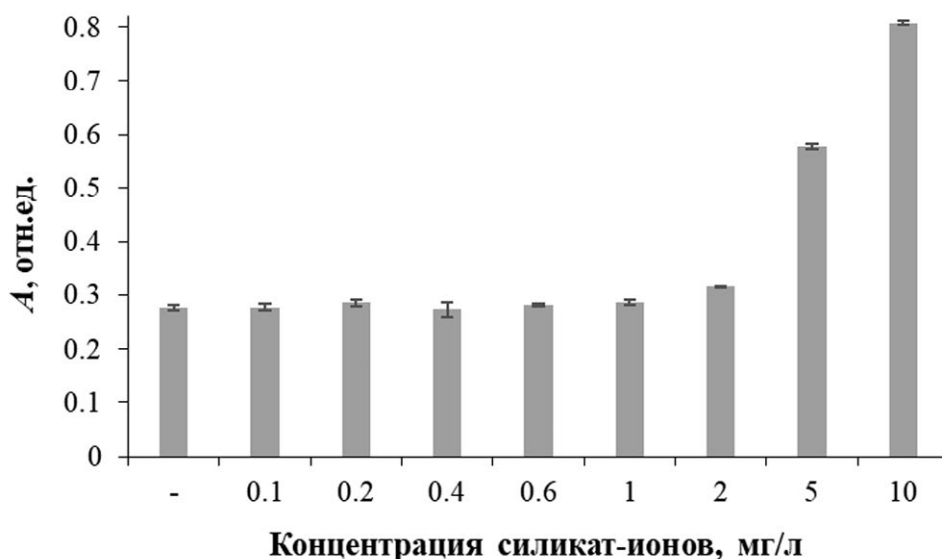


Рис. 4. Влияние концентрации силикат-ионов на величину аналитического сигнала (концентрация фосфат-ионов 0.1 мг/л, объем пробы 1.8 мл, температура нагревания смеси 45°C, время нагревания 15 мин, высаливающий агент — NaCl, концентрация NaCl 10%, агент коацервации — пивалевая кислота, $n = 3$).

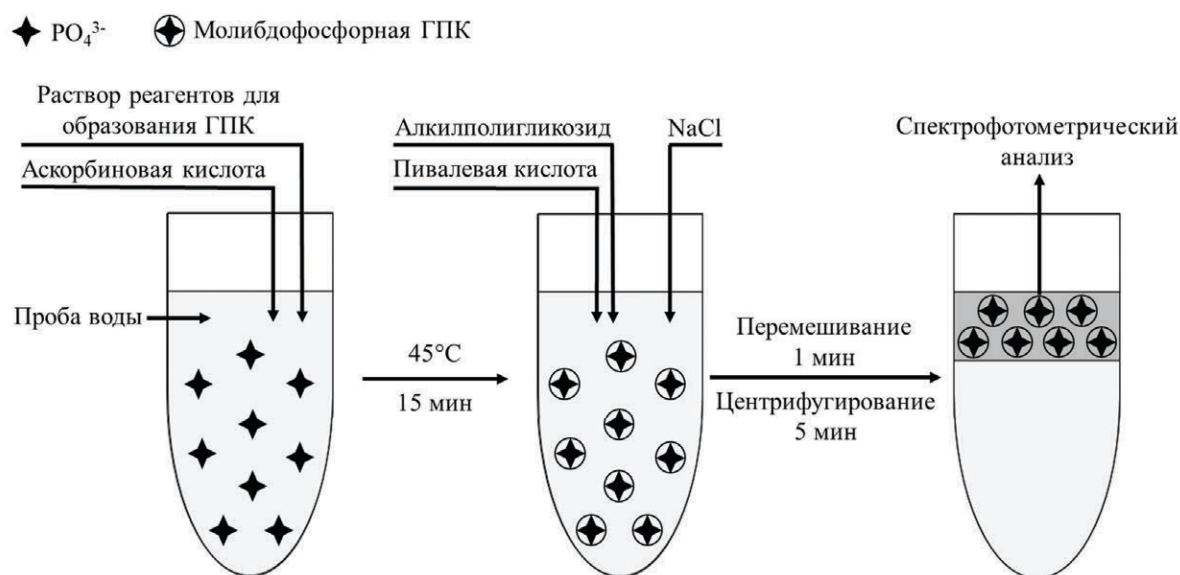


Рис. 5. Схема выполнения мицеллярной микроэкстракции при определении фосфат-ионов в водных средах.

В полимерную пробирку помещают 1.8 мл пробы воды, добавляют 70 мкл раствора реагентов и перемешивают. Далее к раствору добавляют 40 мкл раствора аскорбиновой кислоты с концентрацией 100 г/л, перемешивают и термостатируют в течение 15 мин при 45°C. Затем к реакционной смеси добавляют навеску хлорида натрия (0.2 г) и перемешивают в течение 1 мин. К полученному раствору добавляют 1.2 мл 12%-ного раствора АПГ с содержанием винной кислоты 1%, а также 210 мкл пивалевой кислоты в качестве агента коацервации и интенсивно перемешивают вручную в течение 1 мин. Для разделения фаз экстракционную систему центрифугируют в течение 5 мин при 5000 об/мин. Полученную мицеллярную фазу разбавляют изопропиловым спиртом в 1.2 раза. Оптическую плотность экстракта измеряют при 800 нм относительно холостой пробы. Холостую пробу готовят при использовании деионизованной воды, проводя ее через все стадии пробоподготовки.

При валидации разработанного способа экспериментально установили диапазон определяемых концентраций, предел обнаружения, предел определения, характеристики прецизионности и правильности. Для построения градуировочной зависимости использовали рабочие растворы фосфат-ионов. Диапазон определяемых концентраций составил 0.02–0.40 мг/л, предел обнаружения (3σ) – 5 мкг/л, предел определения – 20 мкг/л, коэффициент детерминации R^2 – 0.994. Согласно данным [19] содержание фосфат-ионов в питьевой воде не должно превышать 3.5 мг/л, а в воде для рыбохозяйственного производства – 0.2 мг/л. Для рек, впадающих в озера, ПДК фосфат-ионов составляет 0.05 мг/л [20]. Разработанный способ позволяет проводить мониторинг содержания фосфат-ионов в природных водах. Повторяемость и внутрилабо-

раторную прецизионность оценивали при помощи относительного стандартного отклонения s_r . Значения s_r в условиях повторяемости, рассчитанные по результатам пяти экспериментов, составили 12 и 4% для концентраций фосфат-ионов 0.02 и 0.4 мг/л соответственно. Значения s_r в условиях внутрилабораторной прецизионности, рассчитанные на основании средних значений результатов экспериментов, полученных в течение пяти разных дней, составили 15 и 5% для 0.02 и 0.4 мг/л фосфат-ионов соответственно. Время одного анализа не превышает 30 мин.

Для оценки правильности определяли фосфат-ионы в природных водах (морской, речной и колодезной) методом введено–найденно. Рассчитывали степень выделения по формуле:

$$\text{Степень выделения} = \frac{c_{\text{с добавкой}} - c_{\text{без добавки}}}{c_{\text{добавки}}} \times 100\%,$$

где $c_{\text{с добавкой}}$ – концентрация фосфатов в пробе с введенной добавкой, мг/л; $c_{\text{без добавки}}$ – концентрация фосфатов в пробе, мг/л; $c_{\text{добавки}}$ – концентрация введенной в пробу добавки, мг/л. Согласно полученным результатам (табл. 1) фосфат-ионы присутствуют в пробах природной воды в концентрациях, не превышающих предельно допустимой концентрации для питьевой воды (3.5 мг/л [19]). Разработанный способ обеспечивает степени выделения аналитов от 91 до 109%. В соответствии с данными [20] для проб с содержанием аналита на уровне 10 мг/кг и менее степень выделения от 80 до 110% можно считать приемлемой.

* * *

Разработан способ мицеллярной микроэкстракции на основе АПГ (C_8 – C_{10}) для спектрофотометрического определения фосфат-ионов

Таблица 1. Результаты определения фосфат-ионов в природных водах ($n = 3$, $P = 0.95$)

Проба	Введено, мг/л	Найдено, мг/л	Степень выделения, %
Морская вода	0	0.238 ± 0.020	–
	0.150	0.398 ± 0.029	106
	0.300	0.516 ± 0.019	93
Речная вода	0	0.914 ± 0.025	–
	0.500	1.46 ± 0.12	109
	1.000	1.82 ± 0.25	91
Колодезная вода	0	0.81 ± 0.11	–
	0.400	1.18 ± 0.11	92
	0.800	1.56 ± 0.13	96

в водных средах. Способ позволяет определять фосфат-ионы в присутствии силикат-ионов в пробе в концентрациях до 1 мг/л. За счет проведения экстракции с использованием природного ПАВ способ является экологически безопасным, а отсутствие дорогостоящего и труднодоступного оборудования делает его простым и экономичным. Предложенный способ мицеллярной микроэкстракции открывает новые возможности для выделения других неорганических аналитов (например, ионов металлов в форме их комплексов с хромогенными реагентами).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Авторы выражают благодарность Российскому научному фонду (проект № 24-23-00052, <https://rscf.ru/project/24-23-00052/>) за финансовую поддержку проводимых исследований.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vakh C., Koronkiewicz S. Surfactants application in sample preparation techniques: Insights, trends, and perspectives // Trends Anal. Chem. 2023. V. 165. Article 117143.
2. Ballesteros-Gomez A., Rubio S., Perez-Bendito D. Potential of supramolecular solvents for the extraction of contaminants in liquid foods // J. Chromatogr. A. 2009. V. 1216. P. 530.
3. Zhavoronok M.F., Vakh C., Bulatov A. Automated primary amine-based supramolecular solvent microextraction with monoterpenoid as coacervation agent before high-performance liquid chromatography // J. Food Compos. Anal. 2023. V. 116. Article 105085.
4. Timofeeva I., Stepanova K., Bulatov A. In-syringe surfactant-assisted dispersive liquid-liquid microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in supramolecular solvent from tea infusion // Talanta. 2021. V. 224. Article 121888.
5. Bogdanova P., Pochivalov A., Vakh C., Bulatov A. Supramolecular solvents formation in aqueous solutions containing primary amine and monoterpenoid compound: Liquid phase microextraction of sulfonamides // Talanta. 2020. V. 216. Article 120992.
6. Pochivalov A., Fedorova A., Yakimova N., Safonova E., Bulatov A. Primary amine citrate-based supramolecular designer solvent: Preconcentration of ochratoxin A for determination in foods by liquid chromatography // Anal. Chim. Acta. 2024. V. 1285. Article 341991.
7. Zhavoronok M.F., Pochivalov A., Nugbienyo L., Bulatov A. Primary amine supramolecular solvent microextraction for smartphone-based determination of calcium in milk and infant formula // J. Food Compos. Anal. 2023. V. 124. Article 105700.
8. Bogdanova P., Vakh C., Bulatov A. A surfactant-mediated microextraction of synthetic dyes from solid-phase food samples into the primary amine-based supramolecular solvent // Food Chem. 2022. V. 380. Article 131812.
9. Vakh C., Kasper S., Kovalchuk Y., Safonova E., Bulatov A. Alkyl polyglucoside-based supramolecular solvent formation in liquid-phase microextraction // Anal. Chim. Acta. 2022. V. 1228. Article 340304.
10. Ying G.G. Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment // Environ. Int. 2006. V. 32. P. 417.
11. Kovalchuk Y., Vakh C., Safonova E., Bulatov A. Primary amine-induced coacervation in alkyl polyglucoside micellar solution for supramolecular solvent-based microextraction // ACS Sustain. Chem. Eng. 2023. V. 11. P. 6302.
12. Elser J., Bennett E. A broken biogeochemical cycle // Nature. 2011. V. 478. P. 29.
13. Mackay S.E., Malherbe F., Eldridge D.S. Quaternary amine functionalized chitosan for enhanced adsorption of low concentration phosphate to remediate environmental eutrophication // Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp. 2022. V. 653. Article 129984.

14. ГОСТ 18309-2014 Вода. Методы определения фосфорсодержащих веществ. М.: Стандартинформ, 2019. 22 с.
15. ГОСТ 20851.2-75 Удобрения минеральные. Методы определения фосфатов. М.: ИПК Издательство стандартов, 1997. 37 с.
16. Balzer D. Cloud point phenomena in the phase behavior of alkyl polyglucosides in water // *Langmuir*. 1993. V. 9. P. 3375.
17. Нукитина Е.А. Гетерополисоединения. М.: Государственное научно-техническое издательство химической литературы, 1962. 424 с.
18. Gimbert L.J., Haygarth P.M., Worsfold P.J. Determination of nanomolar concentrations of phosphate in natural waters using flow injection with a long path length liquid waveguide capillary cell and solid-state spectrophotometric detection // *Talanta*. 2007. V. 71. P. 1624–1628.
19. СанПиН 2.1.4.1074-01 Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества.
20. Badamasi H., Yaro M.N., Ibrahim A., Bashir I.A. Impacts of phosphates on water quality and aquatic life // *Chem. Res. J*. 2019. V. 4. P. 124.
21. Taverniers I., De Loose M., Van Bockstaele E. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance // *Trends Anal. Chem.* 2004. V. 23. P. 535.

MICELLAR MICROEXTRACTION WITH ALKYL POLYGLYCOSIDES FOR PRECONCENTRATION AND SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF PHOSPHATE IONS IN AQUEOUS MEDIA

I. I. Timofeeva^{a, *}, M. A. Kochetkova^a, D. D. Dvoynikh^b, Ya. V. Safinskaya^a, E. A. Zubakina^b, A. V. Bulatov^a

^aSt. Petersburg State University, Institute of Chemistry
Universitetskii Ave., 26, 198504 Saint Petersburg, Russia

^bSt. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
Prof. Popov Str., 14, lit. A, 197376 Saint-Petersburg, Russia

* E-mail: i.i.timofeeva@spbu.ru

Abstract. A micellar microextraction technique has been developed for the preconcentration and spectrophotometric determination of phosphate ions in aqueous media based on the formation of a reduced form of molybdenum phosphoric heteropolyacid and its extraction from the aqueous phase into a supramolecular solvent. In this case, *in situ* formation of the supramolecular solvent phase occurs when an amphiphile and a coacervation agent are introduced into the aqueous phase. The possibility of using biodegradable alkyl polyglycoside (C₈–C₁₀) as an amphiphile and carboxylic acids as coacervation agents has been studied. It is shown that in the acidic medium required for the formation of the reduced form of molybdenum phosphoric heteropolyacid, the phase of the supramolecular solvent is separated. The maximum absorbance of the extract is achieved using pivalic acid as a coacervation agent. The limit of detection (3σ) for phosphate ions is 5 μg/L. The technique is environmentally friendly and does not require the use of expensive equipment.

Keywords: micellar microextraction; supramolecular solvents; alkyl polyglycosides; spectrophotometry; phosphate ions; aqueous media.

УДК 543.632.9:615.322

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ РАЗРАБОТКИ МЕТОДИКИ СЕЛЕКТИВНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНА Е НА ПОВЕРХНОСТИ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ НАНЕСЕНИИ МАСЛЯНЫХ ПРЕПАРАТОВ

© 2024 г. Е. С. Волошина^{а, *}, Б. К. Зуев^а, А. В. Михайлова^а

^аИнститут геохимии и аналитической химии им. В. И. Вернадского Российской академии наук
ул. Косыгина, 19, 119991 Москва, Россия

* E-mail: zubor127@yandex.ru

Поступила в редакцию 17.01.2024 г.

После доработки 20.04.2024 г.

Принята к публикации 23.04.2024 г.

Разработана простая методика селективного определения α -токоферола ацетата (витамина Е) в масляном косметическом средстве с целью исследования сорбционной способности кожи человека и равномерности распределения препарата на ее поверхности. Методика предназначена для определения витамина Е на поверхности кожи человека после нанесения его в виде масляного раствора. Определение проводится по собственному поглощению аналита, без применения дополнительных реагентов (аскорбиновой кислоты и щелочи). Методика включает экстракцию витамина Е изопропанолом и регистрацию аналитического сигнала методом УФ-спектрометрии. Градуировочный график линеен в диапазоне 0.02–0.1 мг витамина Е/мл. На основании уравнения градуировочного графика и тангенса угла его наклона вычислен предел определения витамина Е, равный 0.5 мкг/мл. Показано, что данный вариант метода является воспроизводимым, селективным, экспрессным и простым.

Ключевые слова: анализ жирорастворимых витаминов и витаминopodobных средств, селективное определение витамина Е, УФ-спектрофотометрия, сорбционная способность кожи человека.

DOI: 10.31857/S0044450224100041, EDN: TFNVGY

Жирорастворимые витамины, особенно витамин Е (α -токоферола ацетат), в настоящее время нашли широкое применение в медицине, косметологии, дерматологии и входят в состав большинства лекарственных препаратов и средств (БАДы, кремы, лосьоны, тоники, скрабы и др.). Витамин Е замедляет старение кожи, оказывает антиоксидантное действие и выполняет защитную функцию. Он является одним из важнейших витаминов по своей значимости для организма, несмотря на то, что в основном применяется для профилактических целей. В отличие, например, от витамина А, витамин Е подходит для людей любого пола и возраста, а в летнее время просто необходим, так как является самым эффективным и безопасным фильтром-защитником от УФ-лучей. Помимо перечисленного, витамин Е улучшает состояние не только кожного покрова, но ногтей и даже волос, а также способствует заживлению ран и предотвращает появление рубцов. Им богаты растительные масла и некоторые продукты животного происхождения [1–5]. Соединение не является

токсичным. Зачастую его избыток не оказывает вреда, поскольку вещество накапливается организмом и выполняет функцию антиоксиданта. Однократное применение полезного вещества в высокой дозе может спровоцировать: повышение давления, тошноту, метеоризм, диарею и аллергические реакции. Профили токсичности витамина Е до сих пор четко не изложены, а текущие знания, полученные в результате исследований, зависят только от поведения и здоровья животных. Таким образом, необходимы дополнительные исследования *in vivo* и на кожном покрове людей, чтобы получить информацию о различных применениях, токсичности и фармакокинетике витамина Е.

Известно, что кожный покров человека — это самый большой защитный орган человека от влияния внешней среды. Барьерные свойства кожи определяются физико-химическими свойствами эпидермиса, состоящего в основном из различных типов липидов: холестерол, свободные жирные кислоты и керамиды [6]. Они и являются главными защитниками целостности кожного покрова

и отвечают за водонепроницаемость кожи, а также играют роль фильтра поступающих через кожу веществ. Поэтому изучение трансдермальных свойств активного компонента, в данном случае α -токоферола ацетата, необходимо для подбора оптимального его количества для нанесения на тот или иной тип и участок кожи и оценки времени его проникновения. Эта статья является продолжением работы, в которой исследовались трансдермальные свойства масляного раствора витамина Е [4], где основа и витамин не разделялись.

В настоящее время известно несколько вариантов комбинированных методов определения витамина Е во многих объектах [7–13]. В целом методы, используемые для определения витамина Е, разнообразны. К ним относятся химические методы анализа — титриметрические, физико-химические — спектрофотометрические, электрохимические, хроматографические и некоторые другие. В работе [7], например, описано определение витамина Е реакцией с ионами золота, которая является количественной и экспрессной, но имеет два главных недостатка: хлорид золота — дорогой реагент и метод обладает низкой избирательностью. Разработана методика [8] идентификации и количественного определения витамина Е методом хроматографии в тонком слое сорбента с применением компьютерного сканирования и программы Sorbfil Videodensitometer.

Спектральные (оптические) методы в ИК- и УФ-областях заняли свою нишу в определении витамина Е, в различных фармакопеех они отвечают за подтверждение подлинности, лишь для субстанции встречается применение метода УФ-спектрофотометрии для количественной оценки, что связано с многокомпонентностью лекарственных препаратов [9]. Колориметрическое определение в видимой области связано со способностью токоферолов окисляться с образованием продуктов с различной химической структурой и окраской, зависящей от окислителя [11]. Токоферолы обладают интенсивной флуоресценцией с максимумом возбуждения при 295 нм и излучения при 340 нм. На этом основаны спектрофлуориметрические методики определения токоферолов, отличающиеся высокой чувствительностью, специфичностью и простотой [14]. Метод рефрактометрии является экспрессным и экономичным, подходит для определения витамина Е, но концентрации должны быть очень большими — от 20 до 50% [15], что неприемлемо для наших целей. В большинстве случаев исследователи отдают предпочтение хроматографическим методам. Метод ВЭЖХ применяют в качестве основного для определения витамина Е в различных фармакопеех и в пищевых продуктах животного происхождения в связи с его универсальностью, чувствительностью и специфичностью, варьируя

состав подвижной фазы, и как метод пробоподготовки в зависимости от конкретной задачи и возможностей прибора [16]. Метод тонкослойной хроматографии находит применение для анализа чистоты, качественного состава препаратов, а также определения и, в отличие от ВЭЖХ, не требует дорогостоящего оборудования, а с применением простого программного обеспечения характеризуется достаточной точностью анализа [17]. Методы газовой хроматографии применяют при анализе субстанций и масляных растворов витамина Е, однако они имеют недостатки — длительную пробоподготовку пробы и наличие внутреннего стандарта [18], в связи с чем не получили широкого распространения в лабораторной практике.

В настоящей статье авторами в качестве основного метода определения витамина Е выбран метод УФ-спектрофотометрии [18, с. 644], который применяется для подтверждения подлинности препарата. Этот метод предложен как референтный и основан на омылении пробы щелочным раствором с последующей экстракцией аналита гексаном, изооктаном или другими неполярными растворителями. При этом возникают вопросы о полноте извлечения, простоте, надежности и селективности метода.

Следует отметить, что наиболее распространенная форма витамина Е, а именно α -токоферол ацетат, нерастворим в воде и часто встречается в виде масляного раствора. В настоящее время технологии получения таких препаратов постоянно совершенствуются, данные по содержанию основного вещества и его чистоты уточняются, что требует разработки и усовершенствования методов определения низких содержаний витаминов, например для возможности рационального возмещения их дефицита.

Цель данной работы — разработка простой методики пробоподготовки и определения витамина Е для изучения его трансдермальных характеристик и оценки состояния и свойств кожного покрова. В связи с этим можно выделить такие этапы работы, как поиск эффективного метода отбора пробы с исследуемой поверхности, а также разработка методов выделения и определения активного вещества в пробе.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом анализа был масляный раствор α -токоферола ацетат, 100 мг/мл, производства Тульской фармацевтической фабрики (Россия). Модельные растворы готовили с помощью одноканального дозатора Ленпипет 100–1000 мкл, препараты хранили в темном месте при 15–25°C.

Использовали изопропиловый спирт, 99.7% (ГОСТ 9805-84); спирт абсолютизированный ($\geq 99.9\%$); искусственную кожу в виде резиновых листов (невпитывающая поверхность); шпатель

пластиковый косметический; ватные палочки и губку из пористого материала (спонж); пробирки из ПЭТФ 13 × 75 (стерильные для забора венозной крови с пробкой из бромметилкаучука); пластиковые пробирки Эппендорфа емк. 2 мл. Исследования проводили также на участках кожи рук добровольцев-студенток. Потери вещества на дозирующих инструментах при нанесении препарата на кожу определяли с использованием весов аналитических марки ACCULAB ALC-80d4, НПВ 80 г, НмПВ 0.01 г, $d = 0.0001$ г, $e = 0.001$ г.

Построение градуировочных графиков. Для построения градуировочных графиков в качестве исходного раствора использовали масляный раствор α -токоферола ацетата с концентрацией 100 мг/мл. В качестве растворителей применяли спирты этиловый и изопропиловый. Готовили стоковый раствор с концентрацией 1 мг/мл. В мерную колбу емк. 25 мл помещали 10 мл изопропанола/этанола, добавляли 250 мкл исходного раствора, доводили до метки изопропанолом/этанолом и тщательно перемешивали. Растворы использовали свежеприготовленными. Далее готовили рабочие растворы с концентрациями α -токоферола ацетата, мг/мл: 0.1 (100%), 0.08 (80%), 0.06 (60%), 0.04 (40%) и 0.02 (20%). Оптическую плотность измеряли на сканирующем спектрофотометре СПЕКС ССП-715 в кварцевых кюветках ($l = 10$ мм) при длине волны 284 нм на фоне изопропанола/этанола. На основании полученных значений оптических плотностей растворов витамина Е строили градуировочные графики в программе MS Excel.

Методика нанесения препарата на кожу методом дозирования с использованием одноканального дозатора Ленпипет 100–1000 мкл. Дозатором отбирали необходимое количество вещества и первые две порции сливали, третью (считая, что носик пипетки промыт) наносили на образец кожи.

При определении потерь брали чистый сухой наконечник, взвешивали его, отбирали вещество (200 мкл), дозировали на поверхность и взвешивали наконечник после дозирования (точность измерения 0.0002 г).

Разработанная методика эксперимента. В пробирки помещали 5 мл изопропилового спирта. Отбирали витамин Е с исследуемых поверхностей кожи ватными палочками и помещали отрезки этих частей палочек в пробирки, смачивали изопропанолом другие концы палочек, повторно обрабатывали те же участки кожи и помещали их в те же пробирки. Пробирки укупоривали пробками и тщательно перемешивали. Оставляли на 35 мин, встряхивая каждые 5 мин в течение ~ 10 с. В пробирки Эппендорфа вносили по 1.9 мл изопропанола. По истечении 35 мин отбирали из первых пробирок по 0.1 мл раствора, вносили его в пробирки Эппендорфа и тщательно перемешивали. Затем измеряли оптическую плотность этих растворов. По градуи-

ровочному графику находили концентрацию витамина Е в анализируемом растворе и рассчитывали его содержание.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Первый этап работы — построение градуировочных графиков для определения витамина Е методом УФ-спектрофотометрии для сравнения двух растворителей — этанола и изопропанола. С целью снижения стоимости анализа абсолютизированный этанол заменили на изопропанол (99.7%). Ряд экспериментов доказал эквивалентность результатов и спектров при замене этилового спирта на изопропиловый (рис. 1).

Полученные градуировочные графики описываются уравнениями $y = 5.154x + 0.0355$ ($R^2 = 0.9995$) и $y = 5.1414x + 0.0166$ ($R^2 = 0.999$) для этанола и изопропанола соответственно. Градуировочные графики линейны и коррелируют между собой. Для дальнейшей работы в качестве растворителя выбрали изопропиловый спирт. На основании уравнения градуировочного графика и тангенса угла наклона вычислили предел определения витамина Е, равный 0.5 мкг/мл. Тангенс угла наклона рассчитывали следующим образом: $\text{tg } \alpha = b/a$, где α — угол наклона, a — горизонтальное расстояние, b — вертикальное расстояние.

На втором этапе работы выбирали способ равномерного нанесения (распределения) препарата по поверхности исследуемого участка искусственной кожи. Серия соответствующих экспериментов показала, что искусственная модельная кожа не подходит для нанесения масляного раствора витамина Е, так как вещество скатывается в крупные капли. Наилучшие результаты получены при смешении масляного раствора витамина Е с глицерином (1 : 1). Пробы с поверхности такой кожи отбирали не в точке, а по секторам по методу конверта. Спектр глицерина в изопропанол в исследуемой области длин волн не имеет экстремумов.

Затем определяли потери косметического актива при нанесении методами дозирования и распределения с помощью спонжа, обернутого пленкой, и шпателя на кожу.

На основании экспериментальных данных выяснили, что при дозировании оптимальное количество нанесенного препарата для наших целей не должно превышать 0.36 мг/см². Это связано с тем, что при нанесении большего количества вещества растекается за пределы обозначенной нами исследуемой области. На этапе дозирования потеря вещества составила $\sim 10\%$, как показал метод гравиметрии.

Потерю вещества в случае распределения с помощью спонжа и шпателя определяли двумя методами — гравиметрии и УФ-спектрофотометрии. Для оценки потери вещества при нанесении спон-

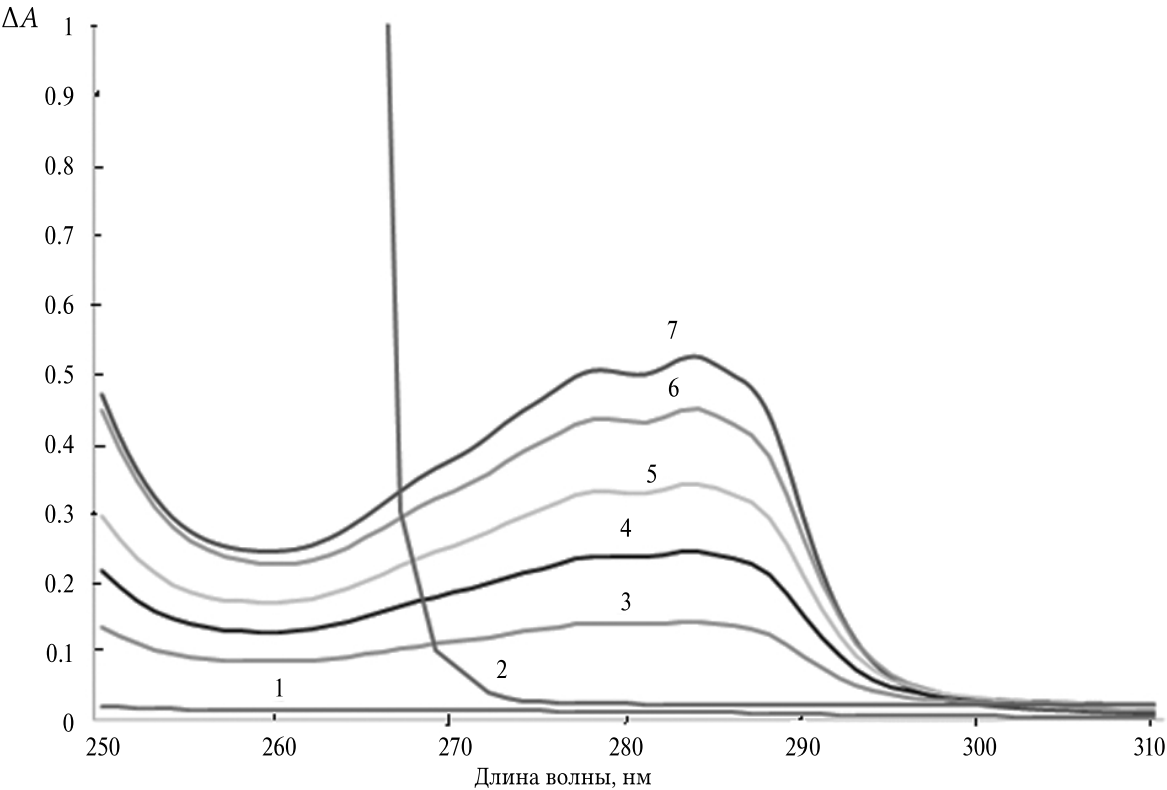


Рис. 1. УФ-спектры изопропанола (1), подсолнечного масла (2) и витамина Е в этаноле (3–5) и изопропанол (6, 7). Спектры регистрировали относительно воздуха.

жем брали кусок пищевой пленки и взвешивали, затем пленкой обматывали спонж и проводили операцию равномерного распределения. После этого кусочек пленки с остатком образца взвешивали. Данную процедуру выполняли трижды. Установили, что после нанесения препарата на кожу и его распределения косметическим шпателем образовывается более равномерный слой на ее поверхности. Потеря витамина Е при распределении обернутым пленкой спонжем составила 20%. При замене спонжа на шпатель потеря вещества значительно сократилась и составила всего 8.5%.

Далее отрабатывали методику наиболее полного отбора препарата с поверхности искусственной кожи. Использовали поверхность модельного искусственного образца кожи. В качестве пробоотборников использовали ватные палочки. На обозначенные участки модельной кожи количественно наносили препарат витамина Е. Каждый участок обрабатывали сухой стороной палочки. Затем эту часть срезали и помещали в изопропанол. Обрабатывали тот же участок смоченным в изопропанол другом концом палочки, который также помещали в ту же емкость с изопропанолом. Выдерживали ватный сорбент в экстракте 10, 15, 25 и 35 мин и измеряли его оптическую плотность. Результаты данной серии экспериментов представлены в табл. 1. Изначально наносили 100 мкл масляного раствора витамина Е. Из табл. 1 видно, что количественно экстракция протекает через 35 мин; это время вы-

держивания выбрали для дальнейшей работы. Эксперимент также показал, что для лучшего эффекта необходимо сначала отбирать витамин Е сухой стороной палочки и только потом делать смыв палочкой, смоченной в изопропанол.

По разработанной методике определяли степень впитывания препарата витамина Е участка-

Таблица 1. Выбор оптимального времени экстракции ($n = 3$, $P = 0.95$)

Время эк- тракции, мин	ΔA , отн. ед.	Среднее ΔA , отн. ед.	Коли- чество витамина Е, %	s_r , %
10	0.3246	0.3056	56.2	0.03
	0.2925			
	0.2996			
15	0.4176	0.4327	80.9	0.02
	0.4374			
	0.4431			
25	0.4326	0.4394	82.2	0.03
	0.4672			
	0.4183			
35	0.4747	0.5113	96.2	0.04
	0.5131			
	0.5461			

ми кожного покрова. Масляный препарат наносили на тыльную сторону руки по участкам разметки (рис. 2). Перед нанесением масляного раствора витамина Е поверхность кожи очищали и обезжиривали 70%-ным этанолом и высушивали на воздухе. Далее на выделенную поверхность кожи площадью 28 см² наносили 100 мкл масляного раствора витамина Е с концентрацией 100 мг/мл. Препарат распределяли по поверхности кожи с помощью косметического шпателя. Распределяли по поверхности каждого участка по 1.3 мг витамина Е. Определяли оставшееся на поверхности кожи количество витамина Е через различные промежутки времени после нанесения: 1, 3, 5, 7, 10, 15 и 20 мин. Полученные результаты представлены в табл. 2. Из таблицы видно, что при местном применении витамина Е в виде масляного раствора на его равномерную абсорбцию могут влиять многие факторы. Это зависит от выбора участка анализируемой области кожи (индивидуальных особенностей кожи, толщины рогового слоя, уровня гидратации, клеточного метаболизма), растекания и смачивания, тепла, со-

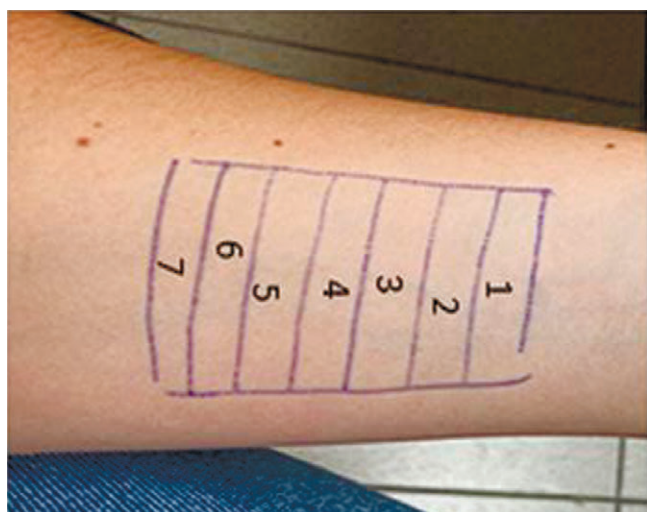


Рис. 2. Разметка кожного покрова тыльной стороны руки для определения полноты впитывания витамина Е.

Таблица 2. Количество абсорбированного кожей витамина Е ($n = 2$, $P = 0.95$)

Номер участка	Время действия на кожу, мин	Среднее количество абсорбированного кожей витамина Е, мг	s_T
1	0	0.91 ± 0.05	0.006
2	1	1.02 ± 0.04	0.004
3	3	1.08 ± 0.04	0.004
4	7	0.84 ± 0.01	0.002
5	10	0.53 ± 0.04	0.008
6	15	0.69 ± 0.03	0.004
7	20	0.37 ± 0.02	0.006

става и свойств растворителя и других мало контролируемых факторов. Известно, что витамин Е — гидрофобное вещество и характеризуется низкой биодоступностью [19], что сильно ограничивает его клиническое применение в терапевтических целях. В работе [19] также отмечается, что пик метаболизма витамина Е приходится на 6–12 ч после нанесения, а за первые два часа существенного изменения концентрации витамина Е на поверхности кожи не происходит. Известно также, что подсолнечное масло имеет высокий уровень комедогенности. Это означает, что его использование на коже может привести к забитым порам. В связи с этим следует искать и применять новые формы в качестве носителей витамина Е, улучшающие его абсорбцию, клеточное усвоение и растворимость.

* * *

Разработана УФ-спектрофотометрическая методика определения витамина Е в форме α -токоферола ацетата в масляных растворах с пределом определения 0.5 мкг/мл. Показано, что при спектрофотометрическом контроле подсолнечное масло не мешает определению витамина Е при 284 нм. В качестве растворителя использовали изопропанол. Разработанная методика отличается простотой, экспрессностью, селективностью по отношению к масляной основе, надежностью, экономичностью. Методика может использоваться для определения витамина Е в растительных маслах, премиксах и в фармацевтических субстанциях.

Предложенная методика, по мнению авторов, также может быть использована для определения витамина Е на поверхности кожи и для оценки его трансдермального проникновения. Стоит отметить, что данную методику можно адаптировать и под другие косметические активы с целью изучения их проникающей способности.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена по теме госзадания Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все исследования проводились в соответствии с принципами биомедицинской этики, изложенными в Хельсинкской декларации 1964 г. и последующих поправках к ней. Они также были одобрены Комитетом по этике Нижегородского государственного университета (Нижний Новгород), протокол № 46 от 11 февраля 2021 г.

Каждый участник исследования дал добровольное письменное информированное согласие после получения разъяснений о потенциальных рисках и преимуществах, а также о характере предстоящего исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной статьи сообщают, что у них нет известных конкурирующих финансовых интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mustacich D.J., Bruno R.S., Traber M.G.* Vitamin E // *Vitam. Horm.* 2007. V. 76. P. 1. [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(07\)76001-6](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(07)76001-6)
2. *Chow C.K.* Biological functions and metabolic fate of vitamin E revisited // *J. Biomed. Sci.* 2004. V. 11. № 3. P. 295. <https://doi.org/10.1007/BF02254433>
3. *Herrera E., Barbas C.* Vitamin E: Action, metabolism and perspectives // *J. Physiol. Biochem.* 2001. V. 57. № 2. P. 43.
4. *Фадейкина И.Н., Пеункова (Волошина) Е.С., Зуев Б.К.* Определение витамина Е (ацетата α -токоферола) на поверхности кожи человека методом ИК-Фурье спектроскопии и изучение некоторых аспектов его трансдермального переноса // *Журн. аналит. химии.* 2021. Т. 76. № 2. С. 130. (*Fadeikina I.N., Peunkova E.S., Zuev B.K.* Determination of vitamin E (α -tocopherol acetate) on the surface of human skin by IR fourier-transform spectrometry and study of some aspects of its tranadermal transfer // *J. Anal. Chem.* 2021. T. 76. № 2. С. 191.)
5. *Переверзева Е.С.* К вопросу химии витаминов группы Е / *Переверзева Е.С., Секерина И.Ю.* Биомедицинская инженерия и биотехнология: Сборник материалов VIII Всероссийской научно-практической конференции, Курск, 01–30 сентября 2015 года / Под ред. *Ткаченко П.В., Лазуриной Л.П.* Курск: Курский государственный медицинский университет, 2015. С. 83.
6. *Утц С.Р., Каракаева А.В., Галкина Е.М.* Методы неинвазивной оценки барьерных свойств кожи // *Саратовский научно-медицинский журнал.* 2014. Т. 10. № 3. С. 512. <file:///C:/Users/%D0%90%D0%BB-%D0%BB%D0%B0/Downloads/metody-neinvazivnoy-otsenki-bariernyh-svoystv-kozhi-1.pdf> (дата обращения: 06.05.2024)
7. *Saeed A.M., Al-Kadumi A.S., Ali N.J.M.* Spectrophotometric determination of vitamin E via formation of gold complex // *Eur. J. Biomed. Pharm. Sci.* 2017. V. 4. № 7. P. 82. <https://www.semanticscholar.org/paper/SPECTROPHOTOMETRIC-DETERMINATION-OF-VITAMIN-E-VIA-Saeed-Al-kadumi/a24f8e4974cea1a38dc2ba602f7252eee7cc69ed> (дата обращения: 06.05.2024).
8. *Чупандина Е.Е., Чечета О.В., Сафонова Е.Ф., Сливкин А.И.* Определение витамина Е в растительных маслах // *Фармация.* 2009. № 6. С. 12. https://www.elibrary.ru/download/elibrary_12882652_59204690.pdf (дата обращения: 06.05.2024).
9. *Тринеева О.В.* Методы анализа витамина Е (обзор) // *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация.* 2013. № 1. С. 212. <http://www.vestnik.vsu.ru/pdf/chembio/2013/01/2013-01-36.pdf> (дата обращения: 06.05.2024).
10. *Жилинская Н.В., Бессонов В.В., Громоных П.С., Богачук М.Н.* Развитие современной методической базы контроля содержания витаминов в пищевой продукции и биологически активных добавках к пище // *Вопросы питания.* 2018. Т. 67. № 6. С. 106. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10072>
11. *Miheeva E.V., Anisimova L.S.* Physico-chemical methods of E-vitamin determination in different objects (review) // *Ind. Lab. Diagn. Mater.* 2005. V. 71. № 2. P. 3.
12. *Сизова Н.В.* Определение токоферолов как липидных антиоксидантов в растительных маслах и животных жирах // *Химия растительного сырья.* 2013. № 1. С. 157. <https://doi.org/10.14258/jcprm.1301157>
13. *Gamna F., Spriano S.* Vitamin E: A review of its application and methods of detection when combined with implant biomaterials // *Materials (Basel).* 2021. V. 14. № 13. P. 3691. <https://doi.org/10.3390/ma14133691>
14. *Спиричев В.Б., Матусис И.И.* Экспериментальная витаминология: Справочное руководство / Под ред. *Островского Ю.М.* Минск: Наука и техника, 1979. 551 с.
15. *Зенкевич И.Г., Косман В.М., Макаров В.Г., Дадали Ю.В.* Количественный рефракто-спектрофотометрический анализ масляных растворов витаминов А и Е // *Журн. прикл. химии.* 2001. Т. 74. № 6. С. 1005. (*Zenkevich I.G., Kosman V.M., Makarov V.G., Dadali Yu.V.* Quantitative refractometric-spectrophotometric analysis of oil solutions of vitamins A and E // *Russ. J. Appl. Chem.* 2001. V. 74. № 6. P. 1034. <https://doi.org/10.1023/A:1013020212839>)
16. *Фармакопея США. USP 29.* Национальный формуляр. NF 24: в 2-х тт. / Пер. с англ. *Абрикосова Ю.Е. и др.* М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. С. 329, 2272, 2455, 3183. The United States Pharmacopeia. USP 29. The National Formulary. NF 24.
17. *Герасимов А.В.* Применение программной обработки сканированных изображений хроматограмм в количественной планарной хроматографии // *Журн. аналит. химии.* 2004. Т. 59. № 4. С. 392. (*Gerasimov A.V.* Use of the software processing of scanned chromatogram images in quantitative planar chromatography //

- J. Anal. Chem. 2004. V. 59. № 4. P. 348.
<https://doi.org/10.1023/B:JANC.0000022787.55169.9c>)
18. Государственная фармакопея РФ. 12-ое изд. Ч. 1. М.: Научный центр экспертизы средств медицинского назначения, 2008. 704 с.
19. *Rangarajan M, Zatz J.L.* Kinetics of permeation and metabolism of alpha-tocopherol and alpha-tocopheryl acetate in micro-Yucatan pig skin // *J. Cosmet. Sci.* 2001. V. 52. № 1. P. 35.

SOME ASPECTS OF THE DEVELOPMENT OF A TECHNIQUE FOR THE SELECTIVE DETERMINATION OF VITAMIN E ON THE SURFACE OF HUMAN SKIN WHEN APPLYING OIL PREPARATIONS

E. S. Voloshina^{a, *}, B. K. Zuev^a, A. V. Mikhailova^a

^a*Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry, Russian Academy of Sciences, Kosygina Str., 19, 119991 Moscow, Russia*

^{*}*E-mail: zubor127@yandex.ru*

Abstract. A simple technique has been developed for the selective determination of α -tocopherol acetate (vitamin E) in an oily cosmetic product in order to study the sorption capacity of human skin and the uniformity of the distribution of the drug on its surface. The technique is designed to determine vitamin E on the surface of human skin after applying it in the form of an oil solution. The determination is carried out by the analyte's own absorption, without the use of additional reagents (ascorbic acid and alkali). The technique includes extraction of vitamin E with isopropanol and registration of the analytical signal by UV spectrometry. The calibration schedule is linear in the range of 0.02–0.1 mg of vitamin E/ml. Based on the equation of the calibration graph and the tangent of its angle, the limit for determining vitamin E is calculated, equal to 0.5 micrograms/ml. It is shown that this variant of the method is reproducible, selective, express and simple.

Keywords: analysis of fat-soluble vitamins and vitamin-like products, selective determination of vitamin E, UV spectrophotometry, sorption capacity of human skin.

УДК 543. 546. 881

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВАНАДИЯ(V) С 4-(2',3',4'-ТРИГИДРОКСИФЕНИЛ)-3-НИТРО-5-СУЛЬФОАЗОБЕНЗОЛОМ В ПРИСУТСТВИИ КАТИОННЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

© 2024 г. В. И. Марданова^{a, *}, Х. Д. Нагиев^a, Ф. М. Чырагов^a^aБакинский государственный университет, химический факультет,
ул. З. Халилова 23, 1148 Баку, Азербайджан

*E-mail: vusala_chem@mail.ru

Поступила в редакцию 22.01.2024 г.

После доработки 10.05.2024 г.

Принята к публикации 15.05.2024 г.

Исследовано комплексообразование ванадия(V) с 4-(2',3',4'-тригидроксифенил)-3-нитро-5-сульфоазобензолом (R) в присутствии катионных поверхностно-активных веществ (КПАВ) — хлорида цетилпиридиния (ЦПСи), бромида цетилпиридиния (ЦПБр) и бромида цетилтриметиламмония (ЦТМАБр). Ванадий(V) с R при соотношении компонентов 1 : 2 и pH 5.0–5.5 образует окрашенный комплекс, который обладает максимальным светопоглощением при 449 нм; реагент в этих условиях поглощает свет при 395 нм. В присутствии КПАВ образуются смешаннолигандные комплексы с соотношением компонентов V(V) : R : КПАВ = 1 : 2 : 2, при этом происходит bathochromный сдвиг максимума в спектре поглощения, а значение pH максимального образования комплекса сдвигается в более кислую среду по сравнению с однороднолигандным комплексом V(V)—R. Светопоглощение комплексов V(V) : R : ЦПСи, V(V) : R : ЦПБр и V(V) : R : ЦТМАБр максимально при 457, 461 и 466 нм соответственно. Выход комплексов максимален при pH 3.5–4.0 (V(V) : R : ЦПСи и V(V) : R : ЦПБр) и при pH 2.5–3.0 (V(V) : R : ЦТМАБр). На образование однородно- и смешаннолигандных комплексов ванадия(V) влияют время реакции, температура и концентрации реагирующих компонентов. Найденные значения констант устойчивости доказали высокую устойчивость образующихся смешаннолигандных комплексов. Методом кондуктометрического титрования определена удельная электропроводность комплексов в оптимальных условиях комплексообразования. Градуировочные графики для определения ванадия(V) в виде однородно- и смешаннолигандных комплексов линейны. Проанализировано влияние посторонних ионов и маскирующих веществ на определение V(V) в виде однородно- и смешаннолигандных комплексов и показано, что в присутствии КПАВ значительно увеличивается избирательность реакции. Анализ по разработанной методике проб воды из озера Ханбулана, Ленкоранский район Азербайджанской Республики, показал присутствие небольших количеств ванадия(V).

Ключевые слова: ванадий(V), 4-(2',3',4'-тригидроксифенил)-3-нитро-5-сульфоазобензол, катионные поверхностно активные вещества, хлорид цетилпиридиния, бромид цетилпиридиния, бромид цетилтриметиламмония, вода озера Ханбулана.

DOI: 10.31857/S0044450224100055, EDN: TFLFLP

Ванадий и его соединения применяют в промышленности для придания определенных свойств стали, в качестве добавок к сплавам, катализаторов, они находят широкое применение в полупроводниковой и лакокрасочной промышленности. Оксиды ванадия используются как ингибиторы в биологических системах при синтезе белков и аминов для регулирования нормы сахара, одна-

ко их высокие концентрации оказывают на живые организмы токсическое воздействие. Известно [1–19], что для определения макроколичеств ванадия(V) практический интерес представляют органические реагенты, особенно азосоединения, синтезированные на основе одно- и многоатомных фенолов.

В представленной работе исследовано комплексообразование ванадия(V) с 4-(2',3',4'-тригидроксифенил)-3-нитро-5-сульфоазобензолом в присутствии катионных поверхностно-активных веществ (КПАВ) — хлорида цетилпиридиния (ЦПСИ), бромида цетилпиридиния (ЦПBr) и бромида цетилтриметиламмония (ЦТМАBr) и разработана методика спектрофотометрического определения микроколичеств ванадия в воде озера Ханбулана, Ленкоранский район Азербайджанской Республики.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Растворы и реагенты. 4-(2',3',4'-тригидроксифенил)-3-нитро-5-сульфоазобензол (R) (схема 1) синтезировали по методике [20]. Состав и строение реагента устанавливали методами элементного анализа и ИК-спектроскопии: вычислено, %: C — 48.81; H — 3.05; N — 4.75; O — 43.39; найдено, %: C — 48.85; H — 3.09; N — 4.79; O — 43.45; ИК-спектры, см^{-1} : 1440 ($-\text{N}=\text{N}-$); 3500–3450 ($\text{Ar}-\text{OH}$); 1350–1320 ($\text{C}-\text{NO}_2$); 1160–1140 ($\text{C}-\text{SO}_3\text{H}$).

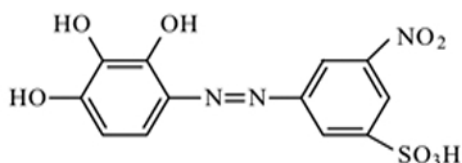


Схема 1. Структурная формула 4-(2',3',4'-тригидроксифенил)-3-нитро-5-сульфоазобензола.

Реагент хорошо растворим в дистиллированной воде. Использовали 1.0×10^{-3} М раствор реагента и растворы КПАВ — хлорида цетилпиридиния, бромида цетилпиридиния и бромида цетилтриметиламмония, которые готовили растворением соответствующих навесок в дистиллированной воде. 1.0×10^{-2} М раствор ванадия(V) получали растворением навески NH_4VO_3 в H_2SO_4 (1 : 1) с последующим разбавлением дистиллированной водой [21]. Рабочий 5.0×10^{-4} М раствор готовили разбавлением дистиллированной водой. Для создания необходимой кислотности использовали ацетатно-аммиачные буферные растворы (pH 3–11) и фиксанал HCl (pH 0–2). Все использованные реагенты имели квалификацию не ниже ч. д. а.

Аппаратура. Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре Lambda-40 с компьютерным обеспечением (Perkin Elmer, США) в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см. Кислотность растворов измеряли иономером PHS-25, настроенным по стандартным буферным растворам. Удельную электропроводность растворов комплексов измеряли на кондуктометре КЭЛ-1М2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Спектры поглощения 4-(2',3',4'-тригидроксифенил)-3-нитро-5-сульфоазобензола и его

однородно- и смешаннолигандных комплексов с ванадием(V) приведены на рис. 1. Как видно, светопоглощение реагента максимально при 395 нм, а его однороднолигандного комплекса с ванадием(V) — при 449 нм. При введении КПАВ в раствор $\text{V(V)}-\text{R}$ образуются смешаннолигандные комплексы, при этом наблюдается bathochromic сдвиг по сравнению со спектрами однороднолигандных комплексов $\text{V(V)}-\text{R}$. Светопоглощение смешаннолигандных комплексов $\text{V(V)}-\text{R}-\text{ЦПСИ}$, $\text{V(V)}-\text{R}-\text{ЦПBr}$ и $\text{V(V)}-\text{R}-\text{ЦТМАBr}$ максимально при 457, 461 и 466 нм соответственно.

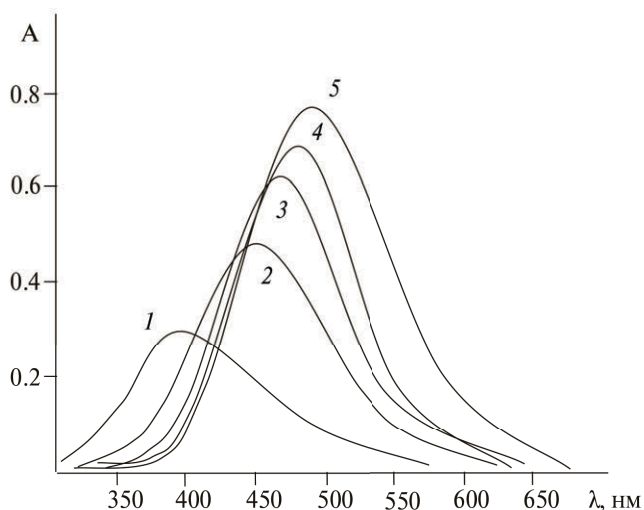


Рис. 1. Спектры светопоглощения экстрактов комплексов ванадия(V) при $\text{pH}_{\text{опт}}$. 1 — R, 2 — $\text{V(V)}-\text{R}$, 3 — $\text{V(V)}-\text{R}-\text{ЦПСИ}$, 4 — $\text{V(V)}-\text{R}-\text{ЦПBr}$, 5 — $\text{V(V)}-\text{R}-\text{ЦТМАBr}$. $c_V = 2.0 \times 10^{-5}$ М, $c_R = 8.0 \times 10^{-5}$ М, $c_{\text{КПАВ}} = 1.0 \times 10^{-4}$ М, Lambda-40 , $\ell = 1.0$ см.

Однороднолигандный комплекс $\text{V(V)}-\text{R}$ образуется при pH 1.0–8.0 (рис. 2), его выход максимален при pH 5.0–5.5 (кривая 1). При образовании смешаннолигандных комплексов $\text{pH}_{\text{опт}}$ сдвигается в более кислую область. Так, выход комплексов $\text{V(V)}-\text{R}-\text{ЦПСИ}$ и $\text{V(V)}-\text{R}-\text{ЦПBr}$ максимален при pH 3.5–4.0 (кривые 2 и 3), а комплекса $\text{V(V)}-\text{R}-\text{ЦТМАBr}$ при pH 2.5–3.0 (кривая 4).

Изучено влияние концентрации реагирующих компонентов, температуры и времени реакции на образование однородно- и смешаннолигандных комплексов. Все комплексы образуются сразу после смешивания растворов компонентов и различаются устойчивостью. Так, если комплекс $\text{V(V)}-\text{R}$ устойчив при нагревании до 50°C в течение 2 ч, то смешаннолигандные комплексы устойчивы в течение более суток и при нагревании до 80°C . Выход однороднолигандного комплекса $\text{V(V)}-\text{R}$ максимален при концентрации реагента 8.0×10^{-5} М, при этом оптическая плотность раствора постоянна при 4–10-кратном молярном избытке реагента. Выход смешаннолигандных комплексов $\text{V(V)}-\text{R}-\text{КПАВ}$ максимален при концентрации реагента 6.0×10^{-5} М и КПАВ — 1.0×10^{-4} М. Опти-

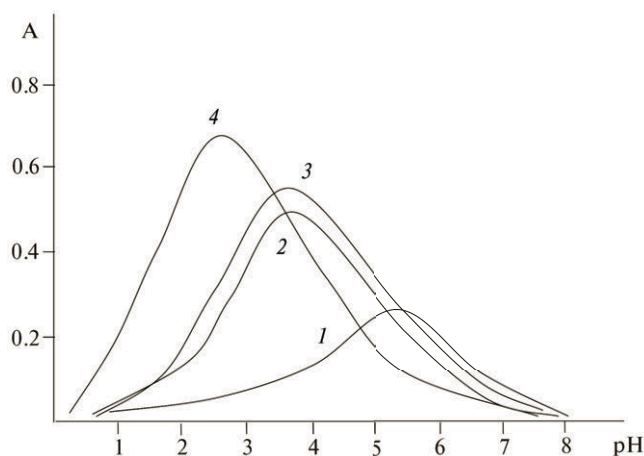


Рис. 2. Влияние pH на светопоглощение растворов комплексов ванадия(V) при $\lambda_{\text{макс}}$ относительно раствора контрольного опыта. 1 – V(V)–R, 2 – V(V)–R–ЦПСI, 3 – V(V)–R–ЦПВr, 4 – V(V)–R–ЦТМАВr. $c_V = 2.0 \times 10^{-5}$ М, $c_R = 8.0 \times 10^{-5}$ М, $c_{\text{КПАВ}} = 1.0 \times 10^{-4}$ М, $\lambda = 40$, $\ell = 1.0$ см.

ческая плотность растворов смешаннолигандных комплексов постоянна при 3–12-кратных молярных избытках реагента и 5–20-кратных избытках КПАВ.

Для определения соотношения компонентов в комплексах использовали методы изомолярных серий, относительного выхода Старика–Барбанеля и сдвига равновесия [22]. Все методы показали, что соотношение компонентов в комплексах V(V)–R и V(V)–R–КПАВ соответственно равно 1:2 и 1:2:2 (табл. 1). Методом пересечения кривых определены константы устойчивости комплексов ванадия(V). Установлено, что смешаннолигандные комплексы V(V)–R–КПАВ характеризуются высокой устойчивостью: $\lg \beta(V-R) = 4.94 \pm 0.03$; $\lg \beta(V-R-ЦПСI) = 9.12 \pm 0.06$; $\lg \beta(V-R-ЦПВr) = 9.75 \pm 0.04$; $\lg \beta(V-R-ЦТМАВr) = 10.42 \pm 0.06$.

Таблица 1. Химико-аналитические характеристики комплексов ванадия(V)

Комплекс	pH _{опт}	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	$\Delta\lambda$, нм	Соотношение компонентов	$\varepsilon \times 10^{-4}$ при $\lambda_{\text{макс}}$	$\lg \beta$	Диапазон линейности, мкг/мл
V–R	5.0–5.5	449	54	1 : 2	1.30 ± 0.02	4.94 ± 0.03	0.20–2.04
V–R–ЦПСI	3.5–4.0	457	62	1 : 2 : 2	2.40 ± 0.03	9.12 ± 0.06	0.10–1.53
V–R–ЦПВr	3.5–4.0	461	66	1 : 2 : 2	2.70 ± 0.03	9.75 ± 0.04	0.05–1.53
V–R–ЦТМАВr	2.5–3.0	466	71	1 : 2 : 2	3.24 ± 0.04	10.42 ± 0.06	0.05–1.78

Таблица 2. Химико-аналитические характеристики комплексов ванадия(V)

R–КПАВ	V _V , мл							
	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0
R	1.85	1.81	1.76	1.70	1.66	1.66	1.66	1.66
R–ЦПСI	1.74	1.70	1.64	1.57	1.53	1.53	1.53	1.52
R–ЦПВr	1.70	1.64	1.54	1.45	1.39	1.39	1.39	1.39
R–ЦТМАВr	1.63	1.57	1.45	1.34	1.28	1.28	1.28	1.27

Методом кондуктометрического титрования определена удельная электропроводность комплексов ванадия(V) [23]. Титрование проводили в среде ацетатно-аммиачного буферного раствора при pH_{опт} комплексообразования 1.0×10^{-3} М в стандартном растворе ванадия(V). Объем титруемого 1.0×10^{-4} М раствора R–КПАВ составлял 50 мл. Установлено, что при титровании электропроводность растворов сначала уменьшается, а затем остается постоянной (табл. 2).

Молярные коэффициенты светопоглощения комплексов V(V)–R, V(V)–R–ЦПСI, V(V)–R–ЦПВr и V(V)–R–ЦТМАВr при $\lambda_{\text{макс}}$ составляют $(1.30 \pm 0.02) \times 10^4$, $(2.40 \pm 0.03) \times 10^4$, $(2.70 \pm 0.03) \times 10^4$ и $(3.24 \pm 0.04) \times 10^4$ соответственно. При сравнении химико-аналитических характеристик комплексов ванадия(V) можно отметить, что с увеличением константы устойчивости увеличиваются молярные коэффициенты светопоглощения комплексов и контрастность реакций комплексообразования и уменьшается удельная электропроводность растворов комплексов.

Зависимости оптической плотности от концентрации ванадия(V) линейны в диапазонах 0.20–2.04 мкг/мл V(V) для комплекса V(V)–R, 0.10–1.53 мкг/мл – V(V)–R–ЦПСI, 0.05–1.53 мкг/мл – V(V)–R–ЦПВr и 0.05–1.78 мкг/мл – V(V)–R–ЦТМАВr. По методу наименьших квадратов получены уравнения градуировочных графиков вида $A = ac + b$ [24]:

$$A = (0.255 \pm 0.090) \cdot c + (2.96 \pm 0.18) \times 10^{-3}, \quad V(V)–R;$$

$$A = (0.471 \pm 0.014) \cdot c + (2.36 \pm 0.12) \times 10^{-3}, \quad V(V)–R–ЦПСI;$$

$$A = (0.529 \pm 0.012) \cdot c + (1.70 \pm 0.09) \times 10^{-3}, \quad V(V)–R–ЦПВr;$$

$$A = (0.637 \pm 0.013) \cdot c + (1.54 \pm 0.05) \times 10^{-3},$$

$$V(V)-R-\text{ЦТМАВr}.$$

Как видно из табл. 1, с возрастанием молярных коэффициентов поглощения комплексов увеличиваются углы наклона (а) линейных уравнений.

Выявлено влияние посторонних ионов на определение ванадия(V) и установлено, что в присутствии КПАВ значительно увеличивается избирательность реакций (табл. 3). Разработанный метод опробован при спектрофотометрическом определении микроколичеств ванадия в воде озера Ханбулана, Ленкоранский район Азербайджанской Республики.

Метод анализа. Для определения ванадия(V) 1 л воды фильтровали, затем упаривали без кипячения до получения твердого остатка. Полученный остаток растворяли в 5 мл HNO_3 (1 : 1), переносили в колбу емк. 50 мл и разбавляли до метки дистиллированной водой. Аликвотную часть полученного раствора помещали в мерную колбу емк.

25 мл, приливали 2 мл 1.0×10^{-3} М раствора реагента и 2.5 мл 1.0×10^{-3} М раствора ЦТМАВr, затем разбавляли до метки аммиачно-ацетатным буферным раствором с pH 3.0. Оптическую плотность раствора измеряли на приборе Lambda-40 при $\lambda = 466$ нм на фоне раствора контрольного опыта (R + ЦТМАВr) в кювете с толщиной поглощающего слоя 1.0 см. Содержание ванадия находили по градуировочному графику. Правильность процедуры проверяли сопоставлением с результатами анализа методом оптической эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой на приборе ICP-OES thermo ICAP 7400 Duo. Результаты анализа показали, что в 1.0 л анализируемой воде содержится 2.487 ± 0.005 мг ванадия.

* * *

Синтезировано азосоединение на основе пирогаллола — 4-(2',3',4'-тригидроксифенил)-3-нитро-5-сульфоазобензол (R), состав и строение

Таблица 3. Допустимые соотношения по массе посторонних ионов и ванадия(V) при его определении в виде однородно- и смешаннолигандных комплексов (погрешность 5%)

Ион или вещество	V(V)–R	V(V)–R–ЦПCl	V(V)–R–ЦПBr	V(V)–R–ЦТМАВr
Na ⁺	6000	6000	6000	6000
K ⁺	10 000	10 000	10 000	10 000
Cu ⁺ (I)	*	15	20	50
Mg ²⁺	600	6250	6250	6250
Ca ²⁺	600	600	1000	1000
Ba ²⁺	2020	2140	2020	2140
Sr ²⁺	350	350	350	3250
Zn ²⁺	338	2130	2130	354
Cd ²⁺	4000	4000	4000	1200
Mn ²⁺	1800	1432	2650	2650
Ni ²⁺	201	420	420	1550
Co ²⁺	2050	2100	2100	950
Pb ²⁺	175	2000	2000	4058
Al ³⁺	200	250	250	270
Fe ³⁺	10	50	50	50
Bi ³⁺	10	20	20	23
Cr ³⁺	1810	1560	3600	3600
Zr ⁴⁺	*	*	*	10
Ti ⁴⁺	*	48	48	48
Mo ⁶⁺	*	20	20	10
W ⁶⁺	20	43	90	100
ЭДТА	*	10	10	40
Мочевина	2500	3060	3060	62
Тиомочевина	570	1055	1600	2000
Лимонная кислота	20	60	70	60
Винная кислота	104	210	210	210

* Мешает определению ванадия(V).

которого установлены методами элементного анализа и ИК-спектроскопии. Спектрофотометрическим методом исследовано комплексообразование ванадия(V) с 4-(2',3',4'-тригидроксифенил)-3-нитро-5-сульфоазобензолом (R) в присутствии КПАВ — хлорида цетилпиридиния, бромида цетилпиридиния и бромида цетилтриметиламмония. Методом кондуктометрического титрования определена удельная электропроводность комплексов ванадия(V) и установлено, что с увеличением константы устойчивости увеличиваются молярные коэффициенты светопоглощения комплексов и контрастность реакции комплексообразования и уменьшается удельная электропроводность комплексов. Анализ по разработанной методике проб воды из озера Ханбулана, Ленкоранский район Азербайджанской Республики, показал присутствие небольших количеств ванадия(V).

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. Zainab H.K. Spectrophotometric determination of vanadium (V) using an organic reagent [4-(6-nitrobenzothiazolylazo) pyrogallol] // *Mesop. Environ. J.* 2017. V. 4. № 1. P. 42.
2. Kuliev K.A., Verdizade N.A., Efendieva N.N., Shiralieva S.M. Sensitive spectrophotometric determination of trace amounts of vanadium (IV,V) in natural samples using 2,6-dithiol-4-ethylphenol and phenantroline // *Int. J. Appl. Chem.* 2017. V. 13. № 1. P. 151.
3. Wenyan H., Kun-peng W., Jinyan Y. Spectrophotometric methods for determination of vanadium: A review // *Toxicol. Environ. Chem. Rev.* 2018. V. 100. № 3. P. 1.
4. Керимов Г.Н., Алиева Т.И., Хаджиева Х.Ф., Агаев Ф.М. Взаимодействие ванадия (V) с 2,3,4-триокси-4'-сульфоазобензолом в присутствии гидрофобных аминов // *Молодой ученый.* 2018. V. 192. № 6. P. 11.
5. Singh S., Nivedita A., Parveen R., Rajesh A., Vikas K. Molecular dynamics, biological study and extractive spectrophotometric determination of vanadium (V)-2-methyl-8-quinolinol complex // *Iran. J. Chem. Chem. Eng.* 2021 V. 40. P. 207.
6. Цинцадзе М., Цигнадзе П., Имнадзе Н., Марданова В.И., Чырагов Ф.М. Изучение комплексообразование V(V) с бис-2,3,4-тригидроксифенилазо) бензидином в присутствии третьего компонента // *Sci.-tech. Rev.* 2022. V. 739. № 2. P. 40.
7. Керимов Г.Н., Алиева Т.И., Хаджиева Х.Ф., Агаев Ф.М. Взаимодействие ванадия (V) с 2,3,4-триокси-4'-сульфоазобензолом в присутствии гидрофобных аминов // *Молодой ученый.* 2018. V. 192. № 6. P. 11.
8. Venkata Narayana Reddy B., Saleem Basha V., Sreenivasulu Reddy T. Determination of titanium and vanadium with 2,4-dihydroxy acetophenone isonicotinoylhydrazone by direct and derivative spectrophotometric method // *Der Pharma Chem.* 2015. V. 7. № 3. P. 16.
9. Nagam S.T.A., Omar A.Y. New approach for the on-line spectrophotometric determination of vanadium(V) in different river water via the use of a homemade ayah 6SX1-T-2D solar-continuous flow injection analyser // *Iraqi J. Sci.* 2023. V. 55. № 4B. P. 1721.
10. Tharakeswar Y., Kalyan Y., Ramakrishna N.G. Determination and quantification of vanadium(V) in environmental samples using chemically modified chitosan sorbent // *JEAS.* 2014. V. 04. № 2. P. 475.
11. Varghese A., George L. Simultaneous first order derivative spectrophotometric determination of vanadium and zirconium in alloy steels and minerals // *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.* 2012. V. 95. P. 46.
12. Hristov D., Milcheva N., Gavazov K. Extraction-chromogenic systems for vanadium(V) based on azo dyes and xylometazoline hydrochloride // *Acta Chim. Slov.* 2019. V. 66. P. 987.
13. Vinita R., Surendra K.R. Spectrophotometric determination of vanadium(V) using 2-furohydroxamic acid as a new analytical reagent // *Int. J. Appl. Chem.* 2021. V. 8. № 1. P. 10.
14. Gavazov K.B., Racheva P.V., Saravanska A.D., Toncheva G.K., Delchev V.B. Extractive spectrophotometric determination and theoretical investigations of two new vanadium(V) complexes // *Molecules.* 2023. V. 28. № 18. P. 6723.
15. Peroković V.P., Ivšić A.G., Car Ž., Tomić S. Synthesis of 3-hydroxy-1-(p-methoxyphenyl)-2-methylpyridine-4-one and spectrophotometric extraction studies on its complexation of vanadium(V) // *Croat. Chem. Acta.* 2014. V. 87. P. 103.
16. Gavazov K.B., Stefanova T.S. Liquid-liquid extraction-spectrophotometric investigations of three ternary complexes of vanadium // *Croat. Chem. Acta.* 2014. V. 87. P. 233.
17. Pasha C., Sunil K., Stancheva K. Crystal violet — A new reagent used for the spectrophotometric determination of vanadium // *Oxid. Commun.* 2022. V. 45. P. 503.
18. Agnihotri R., Agnihotri N., Kumar V., Kamal R. Synthesis and application of 3-hydroxy-2-[3-

- (4-methoxyphenyl)-1-phenyl-4-pyrazolyl]-4-oxo-4h-1-benzopyran for extractive spectrophotometric determination of vanadium (V) // *Der Chem. Sinica*. 2017. V. 8. P. 158.
19. *Mardanova V.I., Nasibova V.N., Nabieva J.A., Abdullayev R.A., Hajiyeva S.R., Chiragov F.M.* Studying the complexation of V(V) with 3-[2-hydroxy-3-sulfo-5-nitrophenylazo]-pentadione-2,4 in the presence of a third component // *Am. J. Clin. Nutr.* 2024. V. 6. № 1. P. 26.
 20. *Бородкин В.Ф.* Химия красителей. М.: Химия, 1981. 248 с.
 21. *Коростелев П.П.* Приготовление растворов для химико-аналитических работ. М.: Наука, 1964. 261 с.
 22. *Булатов М.И., Калинин И.П.* Практикум по фотометрическим и спектрофотометрическим методам анализа. Л.: Химия, 1972. 407 с.
 23. *Худякова Т.А., Крешков А.П.* Теория и практика кондуктометрического и хронокондуктометрического анализа. М.: Химия, 1976. 304 с.
 24. *Батунер Л.М., Позин М.Е.* Математические методы в химической технике. Л.: Госхимиздат, 1963. 638 с.

VANADIUM(V) INTERACTION WITH 4-(2',3',4'-HYDROXYPHENYL)-3-NITRO-5-SULFOAZOBENZENE IN THE PRESENCE OF CATIONIC SURFACTANTS

V. I. Mardanova^{a,*}, H. D. Nagiev^a, F. M. Chiragov^a

^a*Baku State University, Faculty of Chemistry
Z. Khalilova Str., 23, 1148 Baku, Azerbaijan*

^{*}*E-mail: vusala_chem@mail.ru*

Abstract. The complexation of vanadium(V) with 4-(2',3',4'- trihydroxyphenyl)-3-nitro-5-sulfoazobenzene (R) in the presence of cationic surfactants (CSs) — cetylpyridinium chloride (CPCI), cetylpyridinium bromide (CPBr) and cetyltrimethylammonium bromide (CTMABr). Vanadium(V) с R at a ratio of components 1 : 2 and pH 5.0–5.5 forms a colored complex that has maximum light absorption at 449 nm; the reagent under these conditions absorbs light at 395 nm. In the presence of KPA, mixed ligand complexes are formed with a component ratio V(V) : R : KPA = 1 : 2 : 2, while a bathochromic shift of the maximum in the absorption spectrum occurs, and the pH value of the maximum complex formation shifts to a more acidic medium compared to the homogeneous ligand complex V(V)–R. The light absorption of the complexes V(V) : R : CPCI, V(V) : R : CPBr and V(V) : R : CTMABr is maximum at 457, 461 and 466 nm, respectively. The output of the complexes is maximum at pH 3.5–4.0 (V(V) : R : CPCI and V(V) : R : CPBr) and at pH 2.5–3.0 (V(V) : R : CTMABr). The formation of homogeneous and mixed ligand vanadium(V) complexes is influenced by reaction time, temperature and concentrations of reacting components. The values of stability constants found proved the high stability of the resulting mixed ligand complexes. The specific electrical conductivity of complexes under optimal conditions of complex formation was determined by the method of conductometric titration. Calibration graphs for the determination of vanadium(V) in the form of homogeneous and mixed ligand complexes are linear. The influence of foreign ions and masking substances on the determination of V(V) in the form of homogeneous and mixed ligand complexes was analyzed and it was shown that in the presence of CSs the selectivity of the reaction significantly increases. The analysis of water samples from Lake Khanbulana, Lankaran district of the Republic of Azerbaijan, according to the developed methodology, showed the presence of small amounts of vanadium(V).

Keywords: vanadium(V), 4-(2',3',4'-trihydroxyphenyl)-3-nitro-5-sulfoazobenzene, cationic surfactants, cetylpyridinium chloride, cetylpyridinium bromide, cetyltrimethylammonium bromide, Hanbulana Lake water.

УДК 543.51

ТЕРМОДИНАМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ СОСТАВА ОСНОВНЫХ ФОНОВЫХ ИОНОВ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГАЗОКИНЕТИЧЕСКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ В НОРМАЛЬНОЙ (“ГОРЯЧЕЙ”) ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМЕ

© 2024 г. А. А. Пупышев^{a, *}, П. В. Кель^{a, b}, М. Ю. Бурый^c, А. Г. Абакумов^c, П. Г. Абакумов^c

^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

* E-mail: pupyshev@gmail.com

Поступила в редакцию 16.11.2023 г.

После доработки 05.12.2023 г.

Принята к публикации 06.12.2023 г.

Рассмотрена возможность изучения методом термодинамического моделирования проявления основных фоновых ионов, образованных главными элементами индуктивно связанной плазмы (Н, N, O и Ar), при операционных параметрах режима нормальной (“горячей”) плазмы. Такие ионы, создающие самые сильные спектральные помехи в масс-спектрах, всегда наблюдаются при вводе в масс-спектрометры с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП) водных (“влажных”) растворов проб. Методом термодинамического моделирования в диапазоне температур от 3000 до 8000 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. Путем сравнения теоретических и экспериментальных масс-спектров основных фоновых ионов ИСП в нормальном режиме подтверждена возможность однозначной оценки газокинетической температуры плазмы. Установлено, что расчетные и экспериментальные данные по концентрациям только для ионов NO^+ не совпадают с закономерностями, отмеченными для других фоновых ионов в режиме нормальной ИСП.

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

DOI: 10.31857/S0044450224100066, EDN: TFIJNNH

Индуктивно связанная плазма (ИСП) является эффективным источником ионов в методе масс-спектрометрии (МС-ИСП), весьма востребованным в настоящее время для проведения элементного и изотопного анализа в разнообразнейших вариантах применения. В самом начале развития МС-ИСП существовало мнение, что ИСП является близким к идеальному ионным источником, поскольку в масс-спектре были зарегистрированы

первоначально практически только одноатомные положительно заряженные ионы элементов M^+ . Но уже достаточно скоро с накоплением аналитического опыта, совершенствованием приборов МС-ИСП и существенным повышением их чувствительности детектирования стало очевидно, что в регистрируемом масс-спектре во множестве присутствуют также положительно заряженные двухзарядные и многозарядные атомные ионы, кластер-

ные и полиатомные ионы, а также отрицательные ионы. Для выполнения практических анализов это потребовало в первую очередь обобщения обширных сведений о наличии многочисленных спектральных помех при измерении M^+ (основной области применения МС-ИСП) [1–3 и др.] и обязательного введения этих данных в программное обеспечение современных приборов МС-ИСП. Затем возникли задачи корректного учета, снижения уровня или устранения разных видов спектральных помех, которые в обозримом будущем еще во множестве практических случаев нуждаются в решениях.

Наибольшие трудности с учетом и устранением спектральных помех в методе МС-ИСП возникают с полиатомными ионами при элементном и изотопном анализе, когда необходимы измерения точных значений сигналов аналитов, особенно если их концентрации близки к пределам обнаружения. Появление в масс-спектре ИСП многочисленных видов полиатомных ионов связано с матричным составом анализируемых проб и преимущественно с фоновыми ионами, образуемыми главными элементами рабочего газа, воды и воздуха (чаще всего H, C, N, O и Ar), а также кислот (N, F, S и Cl) при вводе в ИСП водного (“влажного”) аэрозоля. При этом основными мы называем фоновые ионы в нормальной (“горячей”) ИСП, проявляющиеся практически при любом применении МС-ИСП и имеющие наиболее высокую интенсивность в ее масс-спектре: H^+ , H_2^+ , H_3^+ , 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^+ .

С другой стороны, присутствие разнообразных видов частиц в ИСП позволяет проводить количественный элементный анализ с их использованием [4] или диагностировать физические условия в ионном источнике, определяя различные виды температур в плазме:

- температуру ионизации (по соотношению интенсивностей пар частиц M^{2+}/M^+ , M^+/M^0 или $M1^+/M2^+$, где M, M1 и M2 — различные элементы) [5–8];
- температуру диссоциации (например, по соотношению интенсивностей пар ионов MO^+/M^+ [9, 10]);
- газокинетическую температуру (например, по соотношению интенсивностей пар фоновых ионов) [5, 11, 12].

Знание газокинетической температуры ИСП необходимо в первую очередь для понимания протекающих ионно-молекулярных реакций непосредственно в плазме разряда, во время экстракции плазмы через вакуумный интерфейс и/или при транспортировке ионов до масс-анализатора, а также для управления этими процессами. Так, например, в работе [5] авторы, сравнивая расчетные и измеренные соотношения интенсивно-

стей полиатомных основных фоновых ионов в МС-ИСП, определяли по различным парам ионов газокинетическую температуру в плазме и решали один из фундаментальных вопросов метода о происхождении полиатомных ионов: образование в результате ионно-молекулярных реакций в ИСП или образование и/или разрушение данных ионов при столкновениях во время экстракции ионов из плазмы в интерфейс прибора.

Указанные три способа оценки различных плазменных температур базируются на определении экспериментального или экспериментально-расчетного отношения концентраций пары отмеченных выше или других частиц в ИСП, 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, атомным и ионным статистическим данным. Например, экспериментальная температурная константа равновесия $K_T(H_2O^+)$ для реакции диссоциации $H_2O^+ = OH^+ + H$ составляет

$$K_T(H_2O^+) = [OH^+][H]/[H_2O^+],$$

где $[OH^+]$, $[H]$ и $[H_2O^+]$ — равновесные концентрации компонентов в плазме разряда при температуре T . Отношение ионных концентраций пары полиатомных ионов $[OH^+]/[H_2O^+]$ можно определить экспериментально, исходя из соотношения ионных сигналов данных компонентов, приняв с большой долей вероятности, что это соответствует отношению концентраций таких ионов в плазме разряда. Концентрацию атомарного водорода можно косвенно рассчитать по количеству воды, попавшей из водного аэрозоля в плазму разряда.

Для метода МС-ИСП эти три способа температурных оценок уже использовали неоднократно, например в работах [5–12]. К сожалению, во всех опубликованных работах различные значения одного вида температуры плазмы, определенные подобными способами, существенно различаются для разных пар частиц. Так, например, для конкретных операционных условий нормальной ИСП (в условиях применения защиты плазмы от вторичного разряда и при учете дискриминации ионов по массе) 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 [5] определен температурный диапазон газокинетической температуры от 1810 К (ArO^+/O^+) до 6440 К (NO^+/N^+). Проведенный также в этой публикации расчет газокинетических температур нормальной ИСП с близкими операционными условиями измерений по экспериментальным данным работы [13] для аналогичного набора ионных пар

показал совершенно другой диапазон температур: от 3860 К ($\text{H}_2\text{O}^+/\text{OH}^+$) до 8890 К (ArO^+/O^+). Следовательно, такие способы определения различных температур плазмы, основанные на рассмотрении только одной ионно-молекулярной реакции, можно признать лишь грубой и неоднозначной их оценкой, хотя они достаточно часто применяются на практике.

Большие расхождения температур плазмы, найденных подобными способами, связаны, с одной стороны, с погрешностями определения реальных концентраций частиц в ИСП (спектральные помехи, дискриминация ионов по массе), приближительными оценками концентраций нейтральных частиц по косвенным данным и, главное, с тем, что эффективность образования разных типов ионов различна даже в соседних осевых и приосевых участках плазмы (продольная и радиальная неизотермичность), одновременно попадающих в интерфейс прибора МС-ИСП. С другой стороны, в таких оценках температуры плазмы рассматривается только одна из множества возможных в ИСП ионно-молекулярных или атомно-ионных реакций, которые в реальных условиях протекают одновременно и, конечно, влияют на выход продуктов реакций в условиях равновесия.

В работе [14] для определения газокинетической температуры низкотемпературной (“холодной”) ИСП, применяемой в МС-ИСП для резкого уменьшения уровня фоновых спектральных помех, предложен подход, не связанный в первую очередь с оценками концентраций нейтральных частиц, прямо не измеряемых в МС-ИСП, и сопоставлением с теоретической константой равновесия отдельной ионной-молекулярной или атомно-ионной реакции. Кроме того, этот подход, применимый при оценке газокинетической температуры и, возможно, определении других физических свойств плазмы, базируется на одновременном учете сигналов большого числа видов основных фоновых ионов, поступающих в интерфейс из различных участков плазмы и регистрируемых экспериментально прибором. При реализации этого подхода теоретическим методом термодинамического моделирования (ТДМ) первоначально получена расчетная информация о температурной зависимости концентрации различных видов основных фоновых ионов в “холодной” ИСП (для конкретных операционных условий анализа). Затем оценка газокинетической температуры плазмы проведена путем прямого сопоставления расчетных и экспериментальных данных по концентрациям и интенсивностям основных фоновых ионов в ИСП. Примененный подход учитывает одновременно большое число рассматриваемых ионов, т.е. фактически происходит сопоставление экспериментальных и теоретических масс-спектров ИСП. Такое сопоставление дало возможность в работе [14] получить

действительно однозначную оценку газокинетической температуры “холодной” ИСП в конкретных операционных условиях анализа.

Целью данной работы является теоретическое изучение возможности достоверного описания методом термодинамического моделирования проявления основных фоновых полиатомных ионов в наиболее часто применяемой в методе МС-ИСП нормальной (“горячей”) ИСП. Это необходимо для лучшего понимания термохимических процессов в ИСП, управления ими, а также для более точного теоретического описания и прогнозирования этих процессов с участием реальных проб различного химического состава (матричные и примесные элементы, растворитель, химические добавки) в условиях широкого варьирования операционных условий анализа. Одновременно ставилась задача получения однозначной оценки газокинетической температуры нормальной ИСП для конкретных операционных условий анализа.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ РАСЧЕТОВ

Теоретические работы должны опираться на надежные экспериментальные результаты. Для термодинамического моделирования основных фоновых масс-спектров нормальной (“горячей”) ИСП в нашей работе использованы одновременно собственные и опубликованные другими авторами экспериментальные данные.

Наши эксперименты выполнены с применением квадрупольного прибора МС-ИСП iCAP RQ (Thermo Fisher Scientific, США) в режиме STD без добавления газа в ячейку столкновений. В качестве рабочего газа использовали аргон высокой чистоты (99.998%). Ввод фоновых и калибровочных (для учета дискриминации ионов по массе) растворов проб осуществляли концентрическим распылителем MicroMist. Частичную десольватацию аэрозоля проводили в кварцевой циклонной распылительной камере с Пельтье-охлаждением (2.8°C). Интерфейс прибора состоял из сэмплера (Ni) с диаметром отверстия 1.1 мм, скиммера (Ni/Cu, 0.5 мм) и стандартной 3.5 мм скиммерной вставки (high matrix insert). Операционные параметры прибора приведены в табл. 1. Измерения осуществляли при варьировании высокочастотной мощности плазмы W и скорости транспортирующего потока аргона V_{Ar} . Глубина пробоотбора плазмы во всех случаях была одинакова — 5 мм.

Калибровочные кривые дискриминации ионов по массе (mass bias) представляют собой зависимости интенсивности ионных токов (имп/с)/(моль/л) измеренных изотопов элементов, пересчитанные с учетом их изотопной распространенности на сигнал элемента, от соотношения массы к заряду m/z . Такие кривые относительной чувствительности измерений в МС-ИСП в наших экспериментах по-

лучали в области до 115 а.е.м. по девяти элементам с низкими первыми потенциалами ионизации атомов с учетом рекомендаций [1]. Затем эти кривые аппроксимировали прямой линией для каждого сочетания высокочастотной мощности и транспортирующего потока аргона, изменяющих кинетическую энергию ионов в плазменном потоке. Обработка полученных результатов калибровки показала, что для диапазонов $W = 1000\text{--}1400$ Вт и $V_{\text{Ar}} = 0.5\text{--}0.9$ л/мин коэффициент корреляции аппроксимирующих прямых составляет 0.92–0.94. Это свидетельствует о практически однозначной зависимости относительной чувствительности измерений от массы изотопа и, следовательно, о выполнении в наших экспериментах с МС-ИСП iCAP RQ условий нормальной плазмы.

При $V_{\text{Ar}} = 1.0$ л/мин и более и всех рассмотренных нами значениях потребляемой мощности W коэффициент корреляции аппроксимирующих прямых значительно уменьшался. При $W = 800$ Вт и всех рассмотренных V_{Ar} (табл. 1) коэффициент корреляции снижался на порядок величины. По нашему мнению, это является следствием того, что данные режимы работы ИСП характеризуются уже существенно меньшей ее газокинетической температурой. Данный вывод подтверждается следующими фактами:

1) в условиях “холодной” плазмы полностью нарушается корреляционная зависимость между относительной чувствительностью измерений в МС-ИСП и соотношением массы к заряду m/z измеренных изотопов [13];

2) газокинетическая температура ИСП, экспериментально измеренная в работе [15] для условий традиционной трехпотоковой плазменной горелки, показывает ее снижение при расходах $V_{\text{Ar}} \geq 1.0$ л/мин и высокочастотной мощности 1.0, 1.25 и 1.5 кВт.

Количественное сопоставление полученных в этих режимах масс-спектров ИСП показало, что они не адекватны режимам нормальной (“горячей”) и низкотемпературной (“холодной”) плазмы, реализованным в работе [13], и соответствуют, по-видимому, промежуточному режиму ИСП — “теплой” плазме. Здесь необходимо отметить, что в работе [5], в которой изучались

газокинетические температуры в различных режимах ИСП, при существенном понижении высокочастотной мощности прибора МС-ИСП лабораторного изготовления и увеличении скорости транспортирующего потока аргона, т.е. ухода от режима нормальной плазмы, также достигался, судя по масс-спектру, только режим “теплой”, но не “холодной” ИСП.

Все наши измерения для основных фоновых ионов выполнены для растворов, содержащих 1 мас. % HNO_3 (PanReac AppliChem, США) в деионизованной воде с максимальным удельным сопротивлением 18.2 МΩ/см, полученной на установке для субдистилляции DuoPUR Subboiling Distilling System (Milestone, Италия).

Из полученных нами масс-спектров ИСП в режиме нормальной плазмы для дальнейшего изучения отобрали группу из 15 основных фоновых ионов: N^+ , NH^+ , O^+ , OH^+ , H_2O^+ , H_3O^+ , N_2^+ , NO^+ , O_2^+ , Ar^+ , ArH^+ , NO_2^+ , ArN^+ , ArO^+ и Ar_2^+ . Выбор только этих ионов для исследования обусловлен следующими причинами:

- масс-спектры данных ионов чаще всего приводятся в опубликованных работах;
- спектральные помехи для этих ионов можно достаточно легко учесть;
- по данным ионам имеется необходимый набор термодинамических свойств, позволяющий учесть их присутствие при проведении дальнейшего термодинамического моделирования;
- при учете эффекта дискриминации ионов по массе для самых легких фоновых ионов (в нашем случае H^+ , N_2^+ и H_3^+) возникает очень большая погрешность аппроксимации кривой чувствительности прибора МС-ИСП. Это не позволяет надежно оценить исправленную экспериментальную интенсивность данных ионов, хотя теоретически образование данных ионов в ИСП можно легко рассчитать;
- именно данные 15 ионов создают наиболее сильные основные фоновые помехи при проведении аналитических определений в случае вводе “влажных” проб в МС-ИСП.

Обработка полученных нами экспериментально масс-спектров указанной выше группы основных фоновых ионов, полученных в режиме нор-

Таблица 1. Экспериментальные операционные параметры приборов

Прибор МС-ИСП	Elan 6000	iCAP RQ
Скорость транспортирующего потока аргона V_{Ar} , л/мин	0.77	0.5, 0.7, 0.9, 1.1
Скорость вспомогательного потока аргона, л/мин	1	0.80
Скорость охлаждающего потока аргона, л/мин	15	14
Мощность высокочастотного генератора W , Вт	1200	800, 1000, 1200, 1400
Скорость подачи фонового раствора, мл/мин	1.0	0.3
Содержание HNO_3 в фоновом растворе, мас. %	0.1	1.0
Исходные данные	[13, 15]	Наши эксперименты

мальной ИСП, показала, что интенсивности ионов этой группы с высокими коэффициентами корреляции R 0.91–0.93 близко соответствуют интенсивностям (масс-спектрам) аналогичных основных фоновых ионов, зарегистрированным в работе [13] (табл. 2) также в режиме нормальной плазмы, но с несколько другими операционными условиями анализа (табл. 1). Графический пример сопоставления таких спектров приведен на рис. 1.

Таблица 2. Коэффициенты корреляции R интенсивностей масс-спектров основных фоновых ионов ИСП (N^+ , NH^+ , O^+ , OH^+ , H_2O^+ , H_3O^+ , N_2^+ , NO^+ , O_2^+ , Ar^+ , ArH^+ , NO_2^+ , ArN^+ , ArO^+ , Ar_2^+), приведенных в работе [6] ($W = 1200$ Вт, $V_{Ar} = 0.77$ л/мин — табл. 1) и полученных в нашем эксперименте с вариацией высокочастотной мощности и транспортирующего потока аргона ($n = 15$) (учет дискриминации ионов по массе в приведенных данных не проводили)

Мощность W , Вт	Расход аргона V_{Ar} , л/мин	R
1000	0.5	0.91
	0.7	0.92
	0.9	0.92
1200	0.5	0.91
	0.7	0.91
	0.9	0.93
1400	0.5	0.91
	0.7	0.91
	0.9	0.93

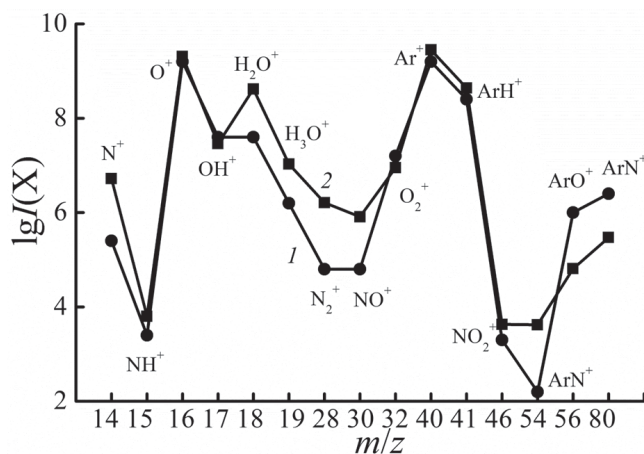


Рис. 1. Пример сопоставления логарифмов интенсивности $\lg I(X)$ (имп/с) основных фоновых ионов X с различными соотношениями m/z для режима нормальной плазмы в работе [13] (табл. 1) (1) и по нашим экспериментальным данным ($W = 1200$ Вт, $V_{Ar} = 0.7$ л/мин) (2) ($n = 15$).

Близкое совпадение масс-спектров нормального режима ИСП, по нашим экспериментам и по данным работы [13] (диапазон коэффициентов корреляции для интенсивностей составляет 0.91–0.93, табл. 2), позволяет далее проводить термодинамическое моделирование термохимиче-

ских процессов в плазме только с одним набором исходных экспериментальных результатов. За основу для изучения возможности описания спектра основных фоновых ионов в МС-ИСП методом термодинамического моделирования взяли только экспериментальные данные работы [13]. В этой статье приведены полные спектры фоновых ионов в нормальной плазме (начиная от $m/z = 5$), позволяющие их оцифровать и получить значения интенсивностей данных ионов. Экспериментальные условия получения масс-спектров приведены в табл. 1. Результаты этой работы неоднократно обсуждались в литературе (свыше 240 цитирований) и использовались в расчетных оценках, как, например, в работе [5]. Следует также отметить, что первоначально данные спектры основных фоновых ионов в нормальной ИСП были опубликованы в работе [16], но без детального обсуждения. В работе [13] также приведены данные авторов по полученной относительной чувствительности измерений: зависимости интенсивности ионных токов (имп/с)/(моль/л) измеренных изотопов элементов, скорректированной на изотопную распространенность, от их соотношения массы к заряду иона m/z . Данная зависимость аппроксимирована затем в публикации [5] до $m/z = 115$ а. е. м. двумя прямыми линиями (кусочно-линейная аппроксимация), что позволяет обрабатывать интенсивности основных фоновых ионов, полученных в работе [13], с учетом эффекта дискриминации ионов по массе.

ТЕРМОДИНАМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ТЕРМОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В НОРМАЛЬНОЙ ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМЕ

Теоретическое изучение образования основных фоновых ионов в условиях режима нормальной ИСП выполнено нами, как и в работе [14], методом равновесного термодинамического моделирования. Метод позволяет изучать высокотемпературные термохимические процессы на основе анализа данных расчетов полного равновесного состава рассматриваемых термодинамических систем с учетом присутствия большинства возможных в равновесии индивидуальных веществ (для низкотемпературной плазмы — атомов, радикалов, молекул, атомных и молекулярных ионов, в том числе и неоднородных). Расчеты проводили с помощью программного комплекса TERRA [17, 18], базирующегося на принципе максимизации энтропии термодинамической системы. В расчетах использовали базу термодинамических свойств индивидуальных веществ ИВТАНТЕРМО [19]. В данную базу дополнительно вводили комплекты термодинамических свойств Ar_2 и Ar_2^+ [20], ArH и ArH^+ [21], ArO и ArO^+ [22], ArN и ArN^+ [23], опубликованные сравнительно недавно.

В расчетах использовали алгоритм термодинамического моделирования, изложенный в работе [24], хорошо зарекомендовавший себя в различных применениях для МС-ИСП и также использованный в работе [14]. В основе алгоритма лежит доказанное ранее допущение о том, что поток плазмы, попадающий в интерфейс прибора МС-ИСП, формируется только транспортирующим потоком аргона и введенным в него аэрозолем пробы. Все учитываемые в расчетах равновесия нейтральные и заряженные индивидуальные вещества приведены в табл. 3.

Таблица 3. 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 ⁺

Исходный состав термодинамических систем для моделирования, численно равный материальным потокам веществ, задан согласно работе [13] и приведен в табл. 4 (режим расчета А). Количество аргона соответствует его транспортирующему потоку в плазменной горелке (табл. 1). Количество воды определяется скоростью ввода фонового раствора в распылитель и принятой в расчетах эффективностью распылительной аэрозольной системы 1%. Количество азотной кислоты соответствует ее экспериментальному содержанию в фоновом растворе — 0.1 мас. % (табл. 1).

Таблица 4. Исходный состав термодинамических расчетных систем для моделирования состава основных фоновых ионов в МС-ИСП (массовая доля)

Расчетный режим	Компонент			Эффективность распылительной системы
	Ar	H ₂ O	HNO ₃	
А	1.375	0.01	0.00001	0.01
Б	1.375	0.05	0.00005	0.05

Необходимо отметить, что использованная в расчетах эффективность распылительной системы в работе [13] является нашей субъективной оценкой, хотя и принятой на основании многих ранее опубликованных работ, изучавших данный вопрос. Поэтому необходимо принять во внимание и оценку эффективности данной распылительной системы, сделанную в работе [5] — 2%. Исходя из этого, чтобы проследить тенденцию влияния эффективности распылительной системы МС-ИСП на спектр основных фоновых ионов, провели также расчеты термодинамического моделирования с эффективностью 5% (табл. 4, расчетный режим Б). Содержание азотной кислоты жестко задано ее концентрацией в анализируемом фоновом растворе.

Расчеты для режима нормальной плазмы ИСП проводили при атмосферном давлении 0.1 МПа в диапазоне температур от 3000 до 8000 К с шагом 500 К. По результатам расчетов получили зависимости концентраций всех индивидуальных веществ (1/см³, 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 в масс-спектрометре соответствует суммарному числу индивидуально зарегистрированных детектором единичных зарядов от каждого иона.

Результаты термодинамических расчетов зависимости концентрации основных фоновых ионов от температуры для нормальной аргоновой ИСП приведены на рис. 2. В температурном диапазоне 3000–8000 К с ростом температуры прогнозируется прохождение концентрации ионов через максимум для H₃⁺, H₂O⁺ и H₃O⁺, N₂⁺, NO⁺ и NO₂⁺. Для остальных фоновых ионов согласно расчетам должно происходить постепенное повышение их концентраций с ростом температуры ИСП. При этом максимальные концентрации ионов в нормальном режиме ИСП должны наблюдаться для основных фоновых ионов H⁺, O⁺, Ar⁺ и ArH⁺.

Для проверки правильности проведения расчетов термодинамического моделирования нормальной ИСП и получения однозначной оценки экспериментальной температуры ИСП, как и в работе [14] для условий “холодной” плазмы, определили коэффициенты корреляций при сопоставлении одновременно концентраций $N(X)$ всех учитываемых в расчетах при различных температурах основных фоновых ионов и экспериментально измеренных [13] интенсивностей $I(X)$ их сигналов (15 основных фоновых ионов), пересчитанных нами с учетом эффекта дискриминации ионов по массе по аппроксимирующим зависимостям, приведенным в работе [15]. Результаты такого сопо-

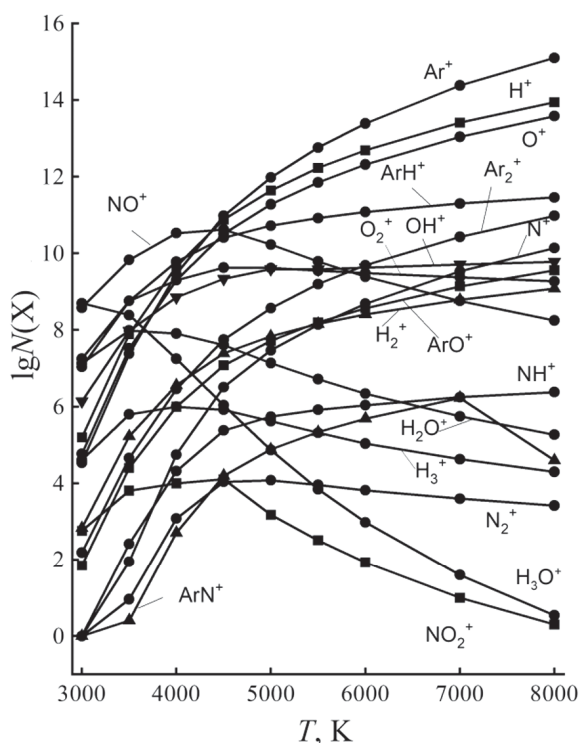


Рис. 2. Изменение расчетных логарифмов концентраций $\lg N(X)$ ($1/\text{см}^3$) различных основных фоновых ионов X в зависимости от температуры T (К) для нормальной аргоновой индуктивно связанной плазмы. Расчетный режим термодинамического моделирования А (табл. 4).

ставления приведены на рис. 3а (кривая 1) (расчетный режим А в табл. 4). Хорошо видно, что наилучшая корреляция сравниваемых экспериментальных и теоретических данных (коэффициент корреляции R 0.77–0.79) достигается при температурах плазмы 4000–5000 К. Анализ расположения точек вокруг линии корреляции для всех рассмотренных расчетных температур показал (на рис. 4 приведен пример для $T = 4500$ К), что наиболее сильно от корреляции отклоняются расчетные данные по концентрации частиц NO^+ . В этом случае экспериментальные значения интенсивности иона NO^+ оказались на несколько порядков ниже, чем расчетные значения концентрации этого иона в условиях нормальной ИСП. Исключение этого иона из расчета (обоснование этой операции будет дано ниже) приводит к достижению значений R 0.91–0.92 в температурном диапазоне от 4000 до 4500 К (рис. 3а, кривая 2). Такие высокие значения коэффициента корреляции доказывают правильность результатов моделирования масс-спектров основных фоновых ионов в нормальном режиме ИСП.

Выше отмечено, что основная неопределенность при проведении расчетов методом термодинамического моделирования для МС-ИСП по экспериментальным условиям работы [13] возникает из-за отсутствия точных и надежных сведений по эффективности распылительной системы, т. е. по количеству аэрозоля фоновой пробы (в дан-

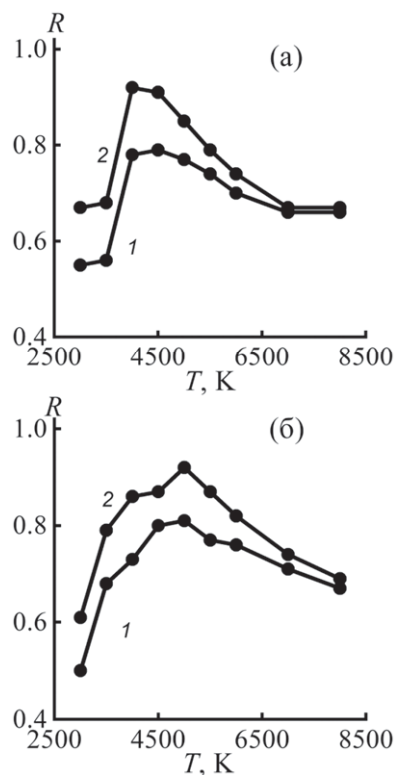


Рис. 3. Изменение коэффициентов корреляции R между экспериментальными значениями интенсивностей (имп/с) основных фоновых ионов [13], полученных с учетом эффекта дискриминации ионов по массе по данным [5], и рассчитанными при различных температурах индуктивно связанной плазмы концентрациями этих ионов ($1/\text{см}^3$) в различных режимах термодинамического моделирования (табл. 4): (а) — расчетный режим А, (б) — расчетный режим Б. Число учитываемых основных фоновых ионов: 1 — при $n = 15$, 2 — $n = 14$ (без учета NO^+).

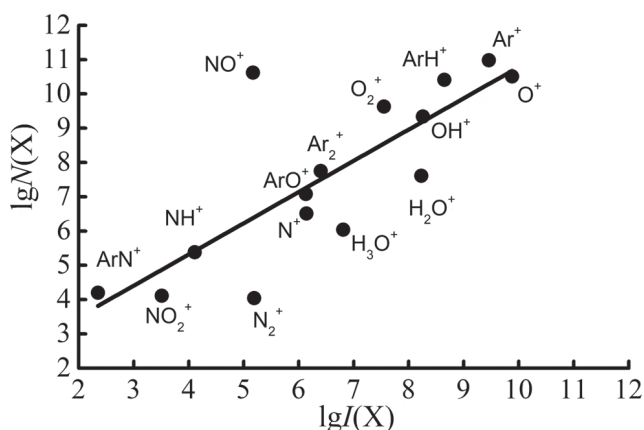


Рис. 4. Корреляционная зависимость между расчетными логарифмами концентраций ионов $\lg N(X)$ ($1/\text{см}^3$) для расчетного режима А (табл. 4) при $T = 4500$ К и экспериментальными логарифмами интенсивностей $\lg I(X)$ (имп/с) основных фоновых ионов X [13], пересчитанных с учетом эффекта дискриминации ионов по массе по данным [5] при $n = 15$.

ном случае H_2O), попадающей в плазму разряда. Для прослеживания влияния эффективности рас-

пылительной системы в МС-ИСП (т.е. изменения массового соотношения $\text{Ag}/\text{H}_2\text{O}$, задающего исходный основной компонентный состав ИСП) выполнили расчеты при значении эффективности распылительной системы 5% (расчетный режим Б в табл. 4). Заметим, что при таких расчетных операциях концентрация HNO_3 в исходном расчетном составе ИСП изменяется синхронно с концентрацией воды в системе, поскольку концентрация азотной кислоты в фоновом растворе пробы жестко задана и поддерживается в эксперименте.

Результаты моделирования в расчетном режиме Б (табл. 4) показали (рис. 3б, кривая 1), что при повышении эффективности распылительной системы МС-ИСП наилучшая корреляция сравниваемых экспериментальных и теоретических данных (R 0.77–0.81) достигается при температурах плазмы 4500–5500 К. Анализ расположения точек вокруг линии корреляции вновь показал ($n = 15$), что наиболее сильно от корреляции при всех рассмотренных температурах отклоняются расчетные данные по концентрации частиц NO^+ . Исключение этого иона из расчета ($n = 14$) вновь, как и в случае расчетного режима А (табл. 4), приводит к достижению высоких значений R 0.87–0.92 в температурном диапазоне от 4500 до 5500 К с явным максимумом при 5000 К (рис. 4б, кривая 2). Теоретические и экспериментальные данные по содержанию фоновых ионов в нормальной плазме при этих условиях наглядно сопоставлены на рис. 5 для расчетной температуры ИСП 5000 К.

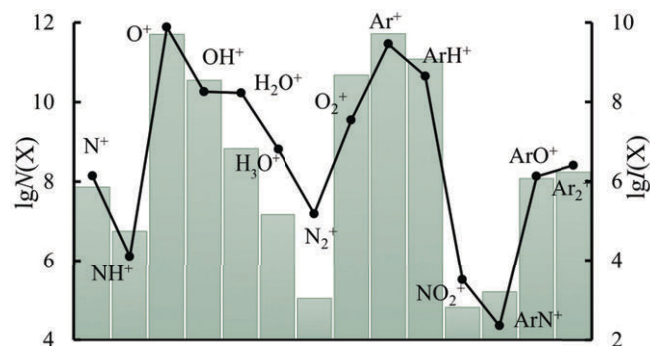


Рис. 5. Гистограмма сопоставления рассчитанных (столбики) логарифмов концентраций $\lg N(X)$ ($1/\text{см}^3$) (расчетный режим Б в табл. 4) фоновых ионов X в индуктивно связанной плазме с логарифмами экспериментальных интенсивностей (точки) $\lg I(X)$ (имп/с) этих ионов [13] при расчетной температуре нормальной плазмы 5000 К (ион NO^+ исключен из расчетов, $n = 14$).

Таким образом, повышение расчетной эффективности распылительной системы в пять раз (от 1 до 5%) практически не изменяет максимальные значения коэффициента корреляции между экспериментальными и расчетными масс-спектрами нормальной ИСП. Это доказывает устойчивость теоретических расчетов и подтверждается тем, что экспериментальные масс-спектры, полученные

в работе [13] с традиционной системой ввода пробы (пневматический распылитель + распылительная камера), с высокой степенью корреляции совпадают (рис. 1) с масс-спектрами, полученными в наших экспериментах при вводе пробы с использованием десольватации аэрозоля (снижение количества вводимого аэрозоля в десятки раз). Данный факт связан, по-видимому, с тем, что массовая доля паров воды составляет менее 1% в общем количестве рабочего тела рассматриваемых термодинамических систем, имеющих мощный внешний источник нагрева.

Максимум температурного распределения в расчетном режиме Б несколько смещается в сторону более высоких температур ИСП (рис. 3). Высокие значения коэффициентов корреляции в максимумах зависимости (режимы А и Б в табл. 4) свидетельствуют о том, что достаточно узкий диапазон температур от 4500 до 5000 К можно считать однозначной оценкой газокинетической температуры ИСП при указанных выше экспериментальных операционных условиях анализа (табл. 1).

Рассмотрим вопрос справедливости исключения при термодинамическом моделировании расчетных данных по иону NO^+ . При этом необходимо отметить, что в работе [14] при сопоставлении экспериментальных и расчетных масс-спектров для условий низкотемпературной (“холодной”) плазмы мы наблюдали очень хорошее совпадение величин сигналов для NO^+ (температурный диапазон 2000–4500 К). В данном случае для условий нормальной (“горячей”) ИСП мы наблюдаем, как показано выше, существенное расхождение экспериментальных и теоретических масс-спектров именно по иону NO^+ .

Чтобы исключить возможные ошибки термодинамического моделирования, выполнили дополнительно расчеты термохимических процессов для режима нормальной плазмы ИСП (табл. 4) с использованием программных комплексов HSC 6.0 и HSC 8.0. Данные комплексы также очень широко применяются при термодинамическом моделировании, базируются, в отличие от программы TERRA, на принципе минимизации энергии Гиббса термодинамической системы и используют собственные банки термодинамических данных индивидуальных веществ [25, 26]. При этом мы получили результаты расчетов, практически совпадающие с данными программного комплекса TERRA, представленными на рис. 2–5.

Изучение термодинамических свойств NO^+ , используемых в банках данных индивидуальных веществ рассмотренных программ, показало, что в программе HSC 6.0 они приведены для диапазона от 298.15 до 6000 К по данным JANAF 1998 [27] (при расчете для более высоких температур идет экстраполяция данных), в TERRA — от 298.15 до

6000 К по данным ИВТАНТЕРМО [19] (с высокими значениями класса точности для расчетных термодинамических функций), в HSC 8.0 — от 298.15 до 2000 К по данным [27] и от 2000 до 20000 К по данным [19]. Рассчитанные нами по этим термодинамическим данным зависимости удельных теплоемкостей c_p от температуры для NO^+ в изучаемом диапазоне температур до 8000 К приведены на рис. 6. Хорошо видно, что эти зависимости достаточно близки между собой, поскольку основаны на одинаковых исходных справочных данных. Следовательно, нельзя говорить о том, что наши расчеты ошибочны, исключая возможные погрешности в исходных фундаментальных данных молекулярных постоянных, используемых для расчета термодинамических функций NO^+ .

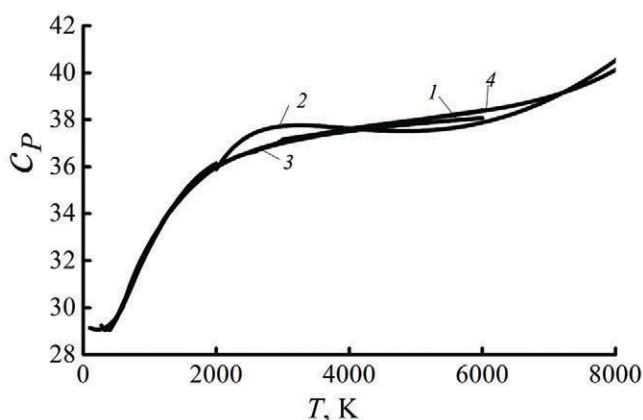


Рис. 6. Сопоставление зависимостей удельной теплоемкости c_p (Дж/(моль·К)) от температуры T (К) по термодинамическим данным, приведенным в программных комплексах TERRA (1) [17], HSC 6.0 (2) [25], HSC 8.0 (3) [26], ИВТАНТЕРМО (4) [19].

Изучение публикаций, в которых сопоставлены расчетные и экспериментальные данные по концентрациям ионов NO^+ , показало, например, что в работе [11] экспериментальные сигналы для NO^+ в условиях нормальной ИСП на три порядка величины меньше, чем их теоретические значения, оцененные по константе равновесия реакции диссоциации. Причиной такого расхождения результатов, по мнению авторов работы [11], может быть другой механизм происхождения иона NO^+ в условиях нормальной плазмы. В работе [5], где выполнено определение газокинетической температуры в нормальной ИСП, отмечается, что ионное соотношение NO^+/N^+ во всех рассмотренных случаях изменения операционных условий анализа дает существенно более высокие значения газокинетической температуры, чем другие пары ионов и причины этого авторам неясны. Неоправданно высокие значения газокинетической температуры, по мнению авторов работы [5], в этом случае означают, что в экспериментальном масс-спектре ИСП слишком мала интенсивность массового пика NO^+

и, следовательно, существует какой-то дополнительный механизм потери данных ионов, специфичный для NO^+ . Другой причиной этих расхождений могут быть, по мнению авторов, также возможные ошибки в фундаментальных данных иона NO^+ .

Таким образом, необычное экспериментально-расчетное поведение ионов NO^+ в ИСП подтверждено уже в нескольких работах: гораздо более низкая измеряемая концентрация ионов NO^+ по сравнению с оценкой, полученной из равновесных расчетов. Причиной этого может быть погрешность в исходных фундаментальных молекулярных постоянных данных ионов или значительные изменения в концентрации NO^+ после попадания в интерфейс прибора МС-ИСП. Трудно предположить, что из всех рассмотренных 15 основных фоновых ионов только для NO^+ возможен такой механизм изменения концентрации ионов в интерфейсе или за ним. Тем не менее необходимо дальнейшее изучение данного вопроса.

Исключение только одного фонового иона NO^+ из 15, учитываемых нами в расчетах термодинамического моделирования масс-спектра основных фоновых ионов в нормальном режиме ИСП, приводит, как показано выше, к резкому улучшению коэффициента корреляции между экспериментальными и расчетными масс-спектрами. Данный факт, а также необычное расчетно-экспериментальное поведение данного иона, отмеченное в работах [5, 11], можно считать обоснованием для исключения иона NO^+ из расчетов равновесного термодинамического моделирования.

Результаты термодинамического моделирования состава основных фоновых ионов МС-ИСП (фоновых масс-спектров ИСП) в режиме нормальной (“горячей”) плазмы и сопоставления с соответствующими экспериментальными данными позволяют сделать следующие выводы:

1. Получена расчетная зависимость концентрации основных фоновых ионов от температуры для аргоновой индуктивно связанной плазмы, подтвержденная экспериментальным масс-спектром для условий нормальной плазмы.
2. Разработанная ранее термодинамическая модель термохимических процессов в МС-ИСП на примере проявления основных фоновых ионов в нормальной плазме вновь продемонстрировала свою надежность, применимость и возможность дальнейшего развития.
3. Опубликованные недавно результаты расчета термодинамических свойств для индивидуальных веществ Ar_2 , Ar_2^+ , ArH , ArH^+ , ArO , ArO^+ , ArN и ArN^+ подтвердили свою достоверность в широком диапазоне температур.
4. Появилась возможность выполнять термодинамическое моделирование термохимических

процессов в различных режимах ИСП с учетом присутствия в системе основных фоновых ионов, что может повысить достоверность моделирования, например при описании и прогнозировании в МС-ИСП спектральных помех и поведения аналитических ионов.

5. Близкое совпадение экспериментальных масс-спектров в нормальном режиме ИСП с расчетными масс-спектрами основных фоновых ионов (N^+ , NH^+ , O^+ , OH^+ , H_2O^+ , H_3O^+ , N_2^+ , O_2^+ , Ar^+ , ArH^+ , NO_2^+ , ArN^+ , ArO^+ и Ar_2^+) может свидетельствовать о том, что в режиме нормальной плазмы все ионы данной группы образуются непосредственно в плазме разряда.

6. Поскольку современные знания о термохимическом поведении иона NO^+ при высоких температурах в ИСП и после входа в интерфейс прибора МС-ИСП явно недостаточны, рекомендуется внимательно рассматривать расчетные равновесные концентрации NO^+ перед включением этих данных в дальнейшие количественные оценки.

7. Подтверждена возможность однозначной оценки газокинетической температуры ИСП путем сопоставления расчетных и экспериментальных данных по концентрациям в ней основных фоновых ионов, учитывающей одновременно большое число рассматриваемых ионов.

8. Для конкретных операционных условий анализа оценена газокинетическая температура нормальной (“горячей”) ИСП.

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

* * *

Метод термодинамического моделирования можно успешно применять для описания термохимических процессов в приборах МС-ИСП в режиме нормальной (“горячей”) плазмы для получения информации о совместном 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). Количественное сопоставление расчетных и экспериментальных масс-спектров основных фоновых ионов ИСП позволяет получать однозначную оценку газокинетической температуры плазмы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Уральского федерального университета,

Института металлургии Уральского отделения Российской академии наук и Кубанского государственного университета. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

Работа выполнена с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования “Эколого-аналитический центр” Кубанского государственного университета.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Пунышев 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.
2. *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>
3. *Taylor H.E.* Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. Practices and Techniques. Academic Press, 2001. 291 p.
4. *Пунышев А.А.* Однозарядные аргидные ионы ArM^+ в методе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Обзор // Журн. аналит. химии. 2023. Т. 78. № 9. С. 783.
<https://doi.org/10.31857/S0044450223090116> (*Pupyshev A.A.* Singly charged argide ArM^+ ions in inductively coupled plasma—mass spectrometry // J. Anal. Chem. 1998. V. 53. № 9. P. 783.
<https://doi.org/10.1134/S1061934823090113>)
5. *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)
6. *Houk R.S., Svec H.J., Fassel V.A.* Mass spectrometric evidence for suprathreshold ionization in an inductively coupled argon plasma // Appl. Spectrosc. 1981. V. 35. № 6. P. 380.
<https://doi.org/10.1366/000370281473>
7. *Wilson D.A., Vickers G.H., Hieftj G.M.* Ionization temperatures in the inductively coupled plasma determined by mass spectrometry // Appl. Spectrosc. 1987. V. 41. № 5. P. 875.
<https://doi.org/10.1366/0003702874448139>
8. *Houk R.S., Zhai Yan.* Comparison of mass spectrometric and optical measurements of temperature and electron density in the inductively coupled plasma during mass spectrometric sampling // Spectrochim. Acta B: At. Spectrosc. 2001. V. 56. P. 1055.
[https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(01\)00202-6](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(01)00202-6)

9. *Evans E.H., Ebdon L., Rowley L.* Comparative study of the determination of equilibrium dissociation temperature in inductively coupled plasma-mass spectrometry // *Spectrochim. Acta B: At. Spectrosc.* 2002. V. 57. P. 741.
[https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(02\)00003-4](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(02)00003-4)
10. *Longerich H.P.* Mass spectrometric determination of the temperature of an argon inductively coupled plasma from the formation of the singly charged monoxide rare earths and their known dissociation energies // *J. Anal. At. Spectrom.* 1989. V. 4. P. 491.
<https://doi.org/10.1039/JA9890400491>
11. *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)
12. *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>
13. *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/JA9951000905>
14. *Пупышев А.А., Зайцева П.В., Бурыйлин М.Ю., Мальцев М.А., Морозов И.В., Осина Е.Л.* Термодинамическое моделирование состава основных фоновых ионов в низкотемпературной (“холодной”) индуктивно связанной плазме // *Журн. аналит. химии.* 2024. Т. 79. № 8. С. 842 (*Pupyshov A.A., Zaitceva P.V., Burylin M.Yu., Maltsev M.A., Morozov I.V., Osina E.L.* Thermodynamic modeling of the composition of the main background ions in low-temperature (“cold”) inductively coupled plasma // *J. Anal. Chem.* 2024. V. 79. № 8. P. 842.
15. *Huang Mao, Lehn S.A., Andrews E.J., Hieftje G.M.* Comparison of electron concentrations, electron temperatures, gas kinetic temperatures, and excitation temperatures in argon ICPs operated at 27 and 40 MHz // *Spectrochim. Acta B: At. Spectrosc.* 1997. V. 52. P. 1173.
[https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(97\)00007-4](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(97)00007-4)
16. *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.
17. *Трусов 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.
18. *Белов Г.В., Трусов Б.Г.* Термодинамическое моделирование химически реагирующих систем. М.: МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2013. 96 с.
19. *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)
20. *Мальцев М.А., Морозов И.В., Осина Е.Л.* Термодинамические свойства димеров аргона Ar_2^+ и Ar_2 // *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 Ar_2^+ and Ar_2 argon dimers // *High Temp.* 2019. V. 57. № 1. P. 37.
<https://doi.org/10.1134/S0018151X19010176>)
21. *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 Temp.* 2019. V. 57. № 3. P. 335.
<https://doi.org/10.1134/S0018151X19020123>)
22. *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 Temp.* 2020. V. 58. № 2. P. 184.
<https://doi.org/10.1134/S0018151X20020133>)
23. *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^+ // *J. Comput. Chem.* 2023. V. 44. № 12. P. 1189.
<https://doi.org/10.1002/jcc.27078>
24. *Пупышев А.А., Суриков В.Г.* Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой. Образование ионов. Екатеринбург: УрО РАН, 2006. 276 с.
25. HSC Chemistry® 6.0. Chemical Reaction and Equilibrium Software with Extensive Thermodynamic Database and Flowsheet Simulation. Outokumpu research, Finland. 2006.
26. HSC Chemistry 8.0. Outokumpu research. Finland, 2014.
27. NIST-JANAF Thermochemical Tables. 4th Ed. / *J. Phys. Chem. Ref. Data. Monograph № 9* / Ed. *Chase M.V.* USA: American Chemical Society and the American Institute of Physics, 1998. 1961 p.

THERMODYNAMIC MODELING OF THE COMPOSITION OF THE MAIN BACKGROUND IONS AND DETERMINATION OF THE GAS KINETIC TEMPERATURE IN A NORMAL (HOT) INDUCTIVELY COUPLED PLASMA

A.A. Pupyshev^{a, *}, P. V. Kel'^{a, b}, M. Yu. Burylin^c, A. G. Abakumov^c, P. G. Abakumov^c

^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*

* *E-mail: pupyshev@gmail.com*

Abstract. The possibility of studying the manifestation of the main background ions formed by the main elements of inductively coupled plasma (H, N, O and Ar) by the method of thermodynamic modeling under the operating parameters of the normal ("hot") plasma regime is considered. Such ions, which create the strongest spectral interference in the mass spectra, are always observed when introducing aqueous ("wet") sample solutions into inductively coupled plasma (ICP-MS) mass spectrometers. The quantitative composition of the main background ions in ICP-MS, depending on the plasma temperature, was calculated using thermodynamic modeling in the temperature range from 3000 to 8000 K. It is compared with experimental data from measurements of the mass spectra of the main background ions and a high degree of correlation between theoretical and experimental results is shown. The coincidence of calculations and experiments confirms the correctness of the thermodynamic model of thermochemical processes used in ICP-MS and its applicability for subsequent calculations in solving analytical problems. By comparing the theoretical and experimental mass spectra of the main background ions of the ICP in the normal mode, the possibility of an unambiguous assessment of the gas kinetic temperature of the plasma was confirmed. It was found that the calculated and experimental data on concentrations only for NO⁺ ions do not coincide with the patterns noted for other background ions in the normal ICP mode.

Keywords: inductively coupled plasma mass spectrometry, normal plasma regime, basic background ions, operating parameters of the device, gas kinetic plasma temperature, thermodynamic modeling.

УДК 543.544.5.068.7:543.51

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДА ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФТАЛАТОВ В ВОДЕ НА УРОВНЕ СЛЕДОВ В РЕЖИМЕ ОНЛАЙН

© 2024 г. Т. А. Григорьева^а, *, А. В. Кузьмин^а, А. Г. Горшков^а

^аЛимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук
ул. Улан-Баторская, 3, 664033 Россия, Иркутск

* E-mail: krom_07@mail.ru

Поступила в редакцию 19.04.2024 г.

После доработки 15.05.2024 г.

Принята к публикации 15.05.2024 г.

Валидирован метод определения фталатов в воде, включающий сорбцию гидрофобных компонентов пробы на колонке жидкостного хроматографа и разделение сконцентрированных анализов методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в режиме онлайн: для количественного определения приоритетных фталатов (ПФ) в поверхностных водах на уровне следов; качественной оценки отношения стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в составе ПФ. Показано отсутствие вклада ПФ из лабораторного фона в результате измерений. Установлены пределы определения (0.15–0.22 мкг/л) и точность определения ($\pm\delta = 10\text{--}20\%$) при применении метода обращенно-фазовой ВЭЖХ онлайн и УФ-детектирования анализов. Обоснованы пограничные значения отношения изотопов $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ для качественной оценки результатов измерения величины $\Delta^{13}\text{C}$ в структуре ди(2-этилгексил)фталата и обнаружено его поступление в воды озера Байкал из биогенных и абиогенных источников. Апробирована методика определения ПФ методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с УФ-детектированием онлайн в полевых условиях на портативном жидкостном хроматографе, оценены диапазоны концентраций ди-*n*-бутилфталата (от < 0.15 до 1.6 мкг/л) и ди(2-этилгексил)фталата (от < 0.22 до 1.6 мкг/л) в прибрежной зоне озера Байкал.

Ключевые слова: приоритетные фталаты, микроэкстракция и ВЭЖХ онлайн, УФ-детектирование, масс-спектрометрия высокого разрешения, озеро Байкал.

DOI: 10.31857/S0044450224100075, EDN: TFBSWK

Диэфиры *o*-фталевой кислоты (фталаты) широко используются в качестве пластификаторов при производстве полимерных материалов, добавок к различным изделиям, к которым относятся медицинское оборудование, краски, смазочные материалы, клеи, косметика. В структуре пластмасс фталаты химически не связаны с полимерной матрицей, что способствует их поступлению в окружающую среду не только в процессе производства, но и при эксплуатации и утилизации изделий из пластика. Объем производства пластмассы составил в 2021 г. 380 млн т [1], и их повсеместное использование привело к распространению фталатов в окружающей среде. Ксенобиотики этого класса обнаружены во льдах Арктики и Антарктики, в телах глубоководных медуз Атлантического океана и байкальской нерпы, в атмосферных осадках, в реках Китая, стран ЕС, России и Африки [2, 3]. Диэфиры *o*-фталевой кислоты отнесены к чис-

лу эндокринных разрушителей и включены в число стойких органических загрязнителей (СОЗ). Принимая во внимание их воздействие на биологические объекты, фталаты подлежат постоянному контролю в объектах окружающей среды. Шесть из них: диметилфталат (ДМФ), диэтилфталат (ДЭФ), ди-*n*-бутилфталат (ДнБФ), бензилбутилфталат (ББФ), ди(2-этилгексил)фталат (ДЭГФ) и диоктилфталат (ДОФ) отнесены к приоритетным фталатам (ПФ) [4]. Максимальные концентрации ПФ, обнаруженные в поверхностных водах, соотносятся между собой следующим образом (мкг/л): 197 (ДЭГФ) $\geq$ 122 (ДнБФ) $\gg$ ДЭФ (33) $\sim$ ДМФ (32) $>$ ДОФ (6.1) $\sim$ ББФ (4.4) [5]. В чистых фоновых районах, например в водах озера Байкал, концентрации доминирующих фталатов, ДнБФ и ДЭГФ, оценены статистически значимыми средними величинами, равными 0.55 и 0.30 мкг/л соответственно [6].

Широко применяемые на практике методики определения ПФ в воде включают жидкостно-жидкостную экстракцию (ЖЖЭ), твердофазную экстракцию (ТФЭ) на картриджах или дисках с обращенно-фазовым (ОФ) сорбентом, где аналиты экстрагируются и концентрируются совместно с сопутствующими и мешающими компонентами пробы. Для удаления последних необходимо введение в методику дополнительной стадии [7–13]. Подготовка проб данными методами требует значительных объемов органических растворителей (в том числе токсичных) и их последующую утилизацию. С целью уменьшения объемов органических растворителей, миниатюризации и автоматизации анализа разработаны методы микроэкстракции: твердофазная (ТФМЭ) и жидкостная микроэкстракция (ЖМЭ) [14, 15]. Методики с применением ТФМЭ и ЖМЭ на стадии подготовки проб и последующим анализом методами газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС) или высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) дают возможность определять фталаты в воде на уровне от 0.2 до 10 нг/л [16, 17].

Основная методическая проблема, возникающая при определении фталатов, связана с риском загрязнения проб фталатами из окружающей среды при их отборе, хранении и транспортировке, из лабораторного фона (из органических растворителей, воздуха лабораторий, пластиковых расходных материалов) при подготовке и анализе образцов. “Вторичное” загрязнение может приводить к ложной положительной идентификации, завышенным результатам определения [18] и становится критически значимым при определении фталатов на уровне следов, когда результат определения ПФ в воде может быть завышен на 0.005–0.49 мкг/л [19]. В связи с этим нижняя граница диапазона определяемых концентраций фталатов ограничена не чувствительностью используемого аналитического метода, а их содержанием в лабораторном фоне.

Концепция онлайн-методологии, основанная на объединении стадий концентрирования и последующего анализа, снижает вероятность загрязнения образцов фталатами из лабораторного фона, поскольку подготовка пробы и измерение аналитических сигналов проходят в замкнутом пространстве. За счет уменьшения риска потерь аналитов на стадии концентрирования (вместо аликвоты используется весь экстракт) и отсутствия вклада лабораторного фона в результат измерения возможно определение фталатов на более низком уровне концентраций.

В настоящей работе валидирован простой и эффективный метод, основанный на сорбции гидрофобных компонентов пробы на ОФ-сорбенте колонки жидкостного хроматографа и разделении сконцентрированных фталатов методом

ВЭЖХ в режиме онлайн (ОФ ВЭЖХ онлайн), с целью определения ПФ в поверхностных водах на уровне следов, измерении отношения стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в составе ПФ для идентификации их источников — биогенных и абиогенных.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и реагенты. Пробы воды в пелагиале озера Байкал отбирали в ходе экспедиционных работ весной и осенью 2018 г. кассетным пробоотборником SBE-32 (Carousel Water Sampler, Sea-Bird Electronics, США) с горизонта 5 м, в прибрежной зоне — поверхностную воду на расстоянии не более 50 м от побережья. На каждой станции отбирали две параллельные пробы в стеклянные бутылки объемом 1 л, добавляли 0.5 мл 1 М водного раствора азида натрия ос. ч. (MERCK, Германия) в качестве консерванта. Бутылки герметизировали крышками с прокладкой из алюминиевой фольги и хранили при температуре +5°C на борту научно-исследовательского судна (НИС) до анализа. Для анализа методами ГХ-МС и ВЭЖХ-масс-спектрометрии высокого разрешения (ВЭЖХ-МСВР) пробы доставляли в лабораторию ЛИН СО РАН. Образцы речной воды отбирали из р. Ангара в пределах городской территории на расстоянии 1–2 м от берега, пробы атмосферных осадков (снег, дождевая вода) — на южном побережье Байкала и территории ЛИН СО РАН. Для хроматографии использовали ацетонитрил сорт 1 (Криохром, Россия), метанол х. ч. (Вектон, Россия), стандарты фталатов (Mix 606 M, Supelco, Германия; ДнБФ и ДЭГФ, Sigma Aldrich, Германия). Для приготовления элюентов метанол перегоняли перед анализом, содержание фталатов в растворителе и воде контролировали методами ГХ-МС и ВЭЖХ соответственно.

Концентрирование пробы и хроматографический анализ. Пробы воды, отобранные на борту НИС, без предварительного фильтрования помещали в мерную колбу емк. 50 мл, добавляли 1.5 мл метанола, перемешивали и доводили пробой до метки. Пробы концентрировали на колонке (2 × 75 мм, сорбент Nucleosil 100-5 C18, Macherey-Nagel, Германия) жидкостного хроматографа Милихром А-02 (ЭкоНова, Россия), прокачивая через колонку образцы со скоростью 200 мкл/мин. Сконцентрированные гидрофобные компоненты элюировали смесью ацетонитрил–вода в градиентном или изократическом режиме при расходе элюента 150 мкл/мин с одновременным детектированием при длинах волн 200, 214, 226 и 280 нм и температуре колонки 50°C.

Определение ди-*n*-бутилфталата и ди(2-этилгексил)фталата в воде методом ОФ ВЭЖХ онлайн. Градуировочные зависимости для определения ПФ в воде устанавливали в диапазоне ожидаемых кон-

концентраций от 0.1 до 6.0 мкг/л. Градуировочные растворы готовили смешиванием соответствующих объемов бутилированной воды (бутыль из полиэтилентерефталата) и исходных растворов ДнБФ и ДЭГФ (200 мкг/мл в ацетонитриле) с добавкой к смеси 3% метанола. Каждый градуировочный раствор (0.1, 0.5, 1.0, 2.5, 6.0 мкг/л) готовили дважды, фталаты концентрировали на колонке хроматографа и элюировали в режиме ВЭЖХ (эффективность колонки по пику пирена 4000–5000 т. т.). Интегрировали площади аналитических пиков на хроматограммах элюатов и строили градуировочные зависимости вида $S = kc$, где S – площадь пика фталата, отн. ед.; k – градуировочный коэффициент (коэффициент чувствительности); c – концентрация фталата в стандартном растворе, мкг/л. Концентрации ДнБФ и ДЭГФ в пробах воды рассчитывали по установленным градуировочным зависимостям.

Пределы обнаружения и определения ПФ оценивали по уровням их концентраций в воде, при которых аналитические пики на хроматограммах элюатов после концентрирования пробы регистрируются с соотношением сигнал/шум (S/N), равным трем и десяти соответственно. Вклад фталатов из лабораторного фона в результат определения оценивали путем регистрации хроматограмм без стадии концентрирования образцов воды на колонке хроматографа до и после проведения анализа и идентификации пиков ПФ.

Степень извлечения и правильность результатов определения ПФ оценивали методом добавок с применением проб речной воды и образцов сравнения для следующих диапазонов измерений, мкг/л: I – 0.2–1.0; II – 1.0–6.0 (табл. 1). В качестве

добавок использовали растворы ПФ с концентрацией 1.0 мкг/мл, приготовленные разбавлением исходных растворов ДнБФ и ДЭГФ ацетонитрилом. Введение добавок приводило к увеличению объема пробы по отношению к начальному не более чем на 1%.

Показатели повторяемости и внутрилабораторной прецизионности количественных измерений фталатов оценивали по рабочим пробам согласно рекомендациям РМГ 61-2010 и РМГ 76-2014 (табл. 2). Внутрилабораторную прецизионность оценивали с использованием алгоритма оценки стандартное отклонение (s) через относительные размахи результатов измерений, полученные в соответствии с рекомендациями РМГ 76-2014. Результат оценки показателя точности включает вклад от оценки показателя прецизионности измерений и вклад от оценки показателя правильности измерений, проведенных с применением метода добавок.

Измерение отношения стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в составе фталатов. Отношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в составе фталатов измеряли на хромато-масс-спектрометре Agilent 1200/6210 (Agilent, США) по методике [14], включающей стадию концентрирования пробы на колонке хроматографа (2 × 75 мм, Nucleosil 100-5 C18). Сконцентрированные фталаты элюировали в следующих условиях: элюент А – 0.1%-ная муравьиная кислота в воде; элюент В – 0.1%-ная муравьиная кислота в ацетонитриле; градиент элюента В от 30 до 100% за 20 мин, затем 100% в течение 15 мин. Фталаты детектировали в режиме ионизации электрораспылением (ИЭР+), диапазон m/z от 60 до 600. Для измерения отношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ интегрировали пики

Таблица 1. Оценка правильности результатов определения ди-*n*-бутилфталата и ди(2-этилгексил)фталата в речной воде методом введено–найдено ($n = 3$, $P = 0.95$)

ПФ	Концентрация ПФ в пробе воды, мкг/л	Введено, мкг		Найдено, мкг/л		Добавка, мкг	
		I	II	I	II	I	II
ДнБФ	0.51 ± 0.08	0.29	2.6	0.78 ± 0.12	3.3 ± 0.3	0.27 ± 0.04	2.8 ± 0.3
ДЭГФ	0.38 ± 0.06	0.29	2.6	0.63 ± 0.09	3.1 ± 0.3	0.25 ± 0.04	2.7 ± 0.3

Таблица 2. Показатели повторяемости, внутрилабораторной прецизионности и точности определения фталатов

Фталат	Диапазон концентраций фталата, мкг/л	Показатель повторяемости, s_r , %	Показатель внутрилабораторной прецизионности, $s_{\text{Рлаб}}$, % ($n = 2$)	Показатель точности, $\pm \delta$, % ($n = 2$, $P = 0.95$)
			$n = 2$	
ДнБФ	0.15–1.0	14	14	15
	1.0–6.0	3.0	4.0	10
ДЭГФ	0.15–1.0	16	20	20
	1.0–6.0	5.0	8.0	12

на хроматограммах при m/z 279.16 ± 0.05 для ДнБФ и 391.28 ± 0.05 для ДЭГФ (молекулярные ионы $[M+H]^+$). Отношение изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ($\Delta^{13}\text{C}$, ‰) рассчитывали по уравнению:

$$\Delta^{13}\text{C}, \text{‰} = \left(\frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{ПФ}}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{СТ}}} - 1 \right),$$

где $(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{ПФ}}$ — отношение стабильных изотопов углерода в составе аналита; $(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{СТ}}$ — отношение стабильных изотопов углерода в составе коммерческих стандартов ДнБФ и ДЭГФ. Масс-спектрометр калибровали по стандарту ESI-L Tuning Mix (Agilent, США).

УФ-спектры приоритетных фталатов регистрировали на спектрофотометре UV-Vis Perkin Elmer Lambda 35, кювета 1 см. Использовали растворы ПФ в ацетонитриле с концентрацией 10 мкг/мл, раствор сравнения — ацетонитрил.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Концентрирование и хроматография приоритетных фталатов. Валидируемый метод ОФ ВЭЖХ-УФ онлайн основан на концентрировании гидрофобных компонентов пробы воды на колонке жидкостного хроматографа, упакованной ОФ-сорбентом, и разделении сконцентрированных веществ методом ВЭЖХ [20]. Концентрирование и разделение ПФ проводили в режиме онлайн, учитывая концентрацию аналитов на уровне следов и риск загрязнения образцов фталатами из лабораторного фона. Результат анализа оценивали по площади пиков фталатов на хроматограмме, получаемой

при элюировании гидрофобных веществ с колонки.

Для определения ПФ в воде на уровне концентрации 0.2 мкг/л методом ВЭЖХ-УФ требуется концентрирование пробы (не менее 4 мл) со степенью $k \geq 2000$. Размеры (2×75 мм, 200 мг сорбента) и температура колонки позволяют проводить анализ пробы за относительно короткий период времени ~ 40 мин, включающий концентрирование образца и последующий ВЭЖХ-анализ на колонке с эффективностью не менее 3000 т. т.

Значения коэффициентов распределения ПФ в системе октанол—вода ($\log K_{ow}$) меняются в широком диапазоне от 1.6 до 8.1 [3], т. е. хроматография фталатов на колонках с ОФ-сорбентом имеет характеристики, индивидуальные для каждого соединения. На короткой колонке в градиентном режиме элюирования разделение смеси шести ПФ достигается за 20 мин хроматографического цикла (рис. 1б), фталаты регистрируются в широком диапазоне времен удерживания тремя парами соединений, имеющих близкие значения коэффициента K_{ow} . При разделении в изократическом режиме элюирования для регистрации аналитических пиков с коэффициентами емкости k' в диапазоне от 1.5 до 1.8 необходимо отдельно подбирать состав подвижной фазы: для ДнБФ это вода—ацетонитрил (20 : 80, по объему), для ДЭГФ вода—ацетонитрил (5 : 95, по объему).

Пики ПФ на хроматограмме элюатов (рис. 1а) отличаются большим временем удерживания и регистрируются с высоким разрешением для пар ББФ и ДнБФ, ДЭГФ и ДОФ. Эффективность (N

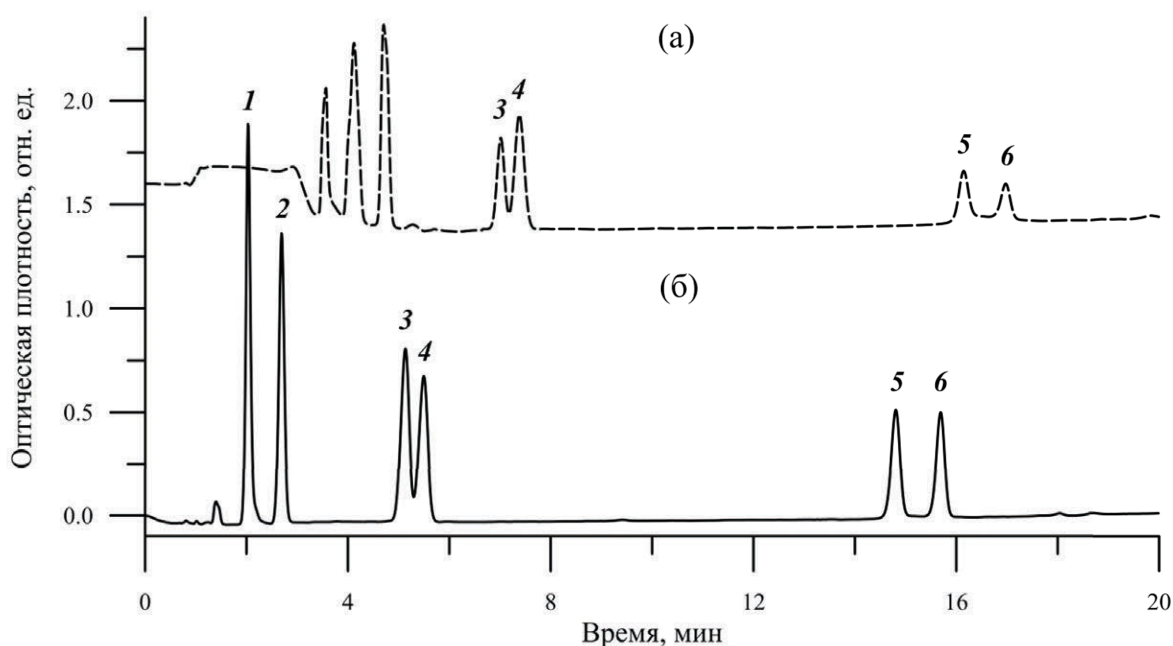


Рис. 1. Хроматограммы смеси приоритетных фталатов (ПФ). Детектирование при $\lambda = 200$ нм; элюенты: А — вода, В — ацетонитрил; градиент В от 60 до 100% за 20 мин, скорость потока 150 мкл/мин. Образцы: (а) раствор ПФ в бутилированной воде, концентрация 0.5 нг/мл каждого, объем сконцентрированного образца 4 мл; (б) 2 мкл раствора ПФ в ацетонитриле, концентрация 1 нг/мкл каждого. Пики: 1 — ДМФ, 2 — ДЭФ, 3 — ББФ, 4 — ДнБФ, 5 — ДЭГФ, 6 — ДОФ.

3000–4000 т. т.) короткой колонки обеспечивает регистрацию гомогенных аналитических пиков с соотношением $S/N \geq 10$. Пики ДМФ и ДЭФ ($\log K_{ow}$ 1.60 и 2.47 соответственно) перекрываются пиками сопутствующих гидрофобных компонентов воды. Учитывая минимальное содержание ДМФ и ДЭФ в поверхностных водах, в байкальской воде в диапазоне концентрации от 0.01 до 0.09 мкг/л [6] их идентификация путем УФ-детектирования затруднена.

Определение приоритетных фталатов в воде на уровне следов с применением метода ОФ ВЭЖХ онлайн. При мониторинге CO_3 в водах озера Байкал опробована методика определения двух доминирующих фталатов – ДнБФ и ДЭГФ (рис. 2) на уровне концентраций от 0.15 до 6.0 мкг/л. Градуировочные зависимости площадей пиков фталатов на хроматограммах элюатов от концентрации ПФ в образцах воды характеризуются коэффициентами корреляции $R^2 \geq 0.99$, коэффициенты k в градуировочных уравнениях составили 0.74 (ДнБФ) и 0.59 (ДЭГФ), константы b – 0.12 и 0.07 соответственно.

Все фталаты содержат в своей структуре единственную хромофорную группу – фрагмент

о-фталевой кислоты, их УФ-спектры характеризуются максимумами поглощения при λ_{max} 200, 226, 274 и 280 нм. Детектирование при $\lambda = 200$ нм обеспечивает максимальную чувствительность, тогда как одновременное детектирование при 200, 214 и 226 нм (табл. 3) – контроль правильности идентификации и гомогенности аналитических пиков путем оценки интегральных спектральных отношений [21]. Надежность идентификация пиков ДнБФ и ДЭГФ при анализе воды обеспечивается двумя критериями – временем удерживания (t_R , $\delta \pm 1.0\%$) и интегральным спектральным отношением (R , $\delta \pm 5.6\%$).

Пределы обнаружения/определения ДнБФ и ДЭГФ (объем пробы 4 мл) оценили значениями, равными 0.05/0.15 и 0.07/0.22 мкг/л соответственно. Снижение нижней границы определяемых содержаний путем увеличения объема концентрируемой пробы реализовать не удалось вследствие размывания аналитических пиков, снижения эффективности колонки и уменьшения интенсивности аналитического сигнала.

Хроматограммы холостых опытов свидетельствуют об отсутствии вклада фталатов лабораторного фона в результат определения ПФ в воде

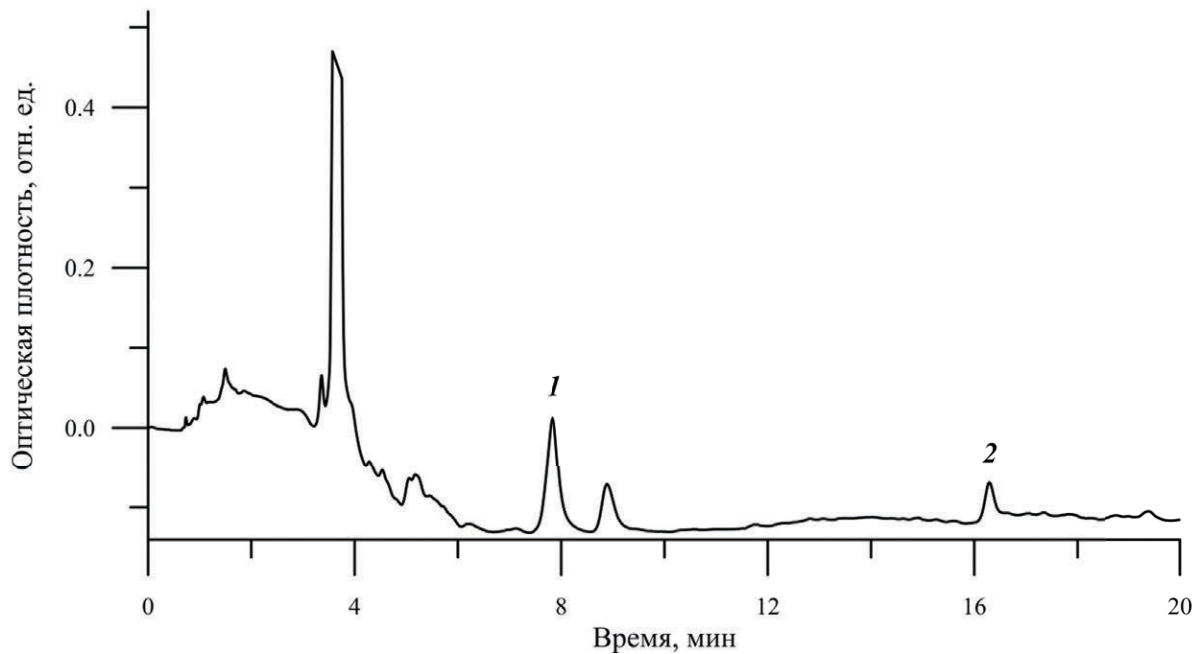


Рис. 2. Хроматограмма элюата гидрофобных веществ байкальской воды, сконцентрированных на колонке. Объем образца 4 мл; пики: 1 – ДнБФ, 2 – ДЭГФ. Колонка 2 × 75 мм, NucleoSil 100-5 C-18, температура колонки 50°C; детектирование при $\lambda = 200$ нм. Элюенты: А – вода, В – ацетонитрил; градиент В от 60 до 100% за 20 мин, скорость потока 150 мкл/мин.

Таблица 3. Спектральные характеристики приоритетных фталатов

ПФ	Молярный коэффициент поглощения, ϵ , л/(моль·см)				Спектральное отношение, R	
	200 нм	226 нм	274 нм	280 нм	$\lambda_{214}/\lambda_{200}$	$\lambda_{226}/\lambda_{200}$
ББФ	4.1×10^4	9.4×10^3	1.5×10^3	1.2×10^3	0.35 ± 0.01	0.20 ± 0.01
ДнБФ	3.6×10^4	8.1×10^3	1.1×10^3	1.0×10^3	0.23 ± 0.01	0.22 ± 0.01

при анализе в режиме онлайн (на хроматограммах холостых опытов пики для содержаний ПФ выше предела обнаружения не зарегистрированы). Оценка правильности результатов определения методом добавок подтверждает отсутствие систематической погрешности при определении ПФ по предложенной методике (табл. 1). Величины констант b в градуировочных уравнениях (вклад фоновых фталатов из растворителей и хроматографического оборудования на стадии градуировки) минимальны, не превышают уровня 0.07–0.12 мкг/л и учитываются при обработке результатов определения.

Природные образцы воды содержат фталаты как в водной, так и в твердой фазах [7], поэтому исключение стадии фильтрования при подготовке проб позволяет определять суммарное содержание ПФ и устранить один из факторов влияния лабораторного фона фталатов на результат анализа. При апробации методики при анализе проб байкальской воды отсутствие стадии фильтрования не затрудняло проведение концентрирования (фильтры хроматографической колонки меняли не реже, чем после анализа 100 образцов), поскольку вода Байкала отличается минимальным содержанием взвешенных веществ (от 0.50 до 1.0 мг/л) [22].

Методики, включающие ЖЖЭ на стадии концентрирования, характеризуются значительным вкладом лабораторного фона в результат определения ПФ при их концентрации в воде на уровне следов. Несмотря на высокую чувствительность метода ГХ-МС, нижняя граница диапазона определяемых концентраций ПФ (0.14 и 0.17 мкг/л

для ДнБФ и ДЭГФ соответственно [23]) сопоставима с пределом определения, установленным методом ОФ ВЭЖХ-УФ онлайн. Результаты апробации методики в полевых условиях представлены в табл. 4.

Детектирование приоритетных фталатов методом масс-спектрометрии высокого разрешения. Фталаты, обнаруженные в поверхностных водах на уровне следов, могут поступать как из антропогенных, так и из биогенных источников. Фталаты биогенного генезиса отличаются более низким содержанием стабильного изотопа углерода ^{13}C в своем составе [24, 25], и отношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ($\Delta^{13}\text{C}$) таким образом позволяет выдвинуть предположение о доминировании природного или антропогенного источника. Для измерения отношения $\Delta^{13}\text{C}$ в составе фталатов предложен способ, включающий детектирование пиков фталатов методом масс-спектрометрии высокого разрешения после их концентрирования на колонке хроматографа и разделения в режиме ВЭЖХ-МС онлайн [26].

Применение метода масс-спектрометрии высокого разрешения с ионизацией электрораспылением характеризуется высокой селективностью и надежностью идентификации аналитических пиков. Отношение стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в составе фталатов оценивают по отношению площадей пиков моноизотопных молекулярных ионов $[\text{M}+\text{H}]^+$ и $[\text{M}+1+\text{H}]^+$, соответствующих содержанию стабильных изотопов углерода ^{12}C и ^{13}C соответственно (рис. 3). Метод ОФ ВЭЖХ онлайн устраняет неопределенность результа-

Таблица 4. Концентрации (мкг/л) ди-*n*-бутилфталата и ди(2-этилгексил)фталата в прибрежной зоне озера Байкал (верхний водный слой толщиной 5 м, мониторинг в 2018 г. Приведены результаты определения приоритетных фталатов в одних и тех же пробах на борту НИС и в лаборатории ЛИН СО РАН)

Район отбора проб	Сезон	ПФ	Методика	
			ОФ ВЭЖХ-УФ	ГХ-МС-МВИ ¹
Южный Байкал	Весна	ДнБФ	< 0.15–1.6	< 0.14–1.3
	Осень		0.24–1.0	0.15–0.8
	Весна	ДЭГФ	< 0.22–0.8	< 0.17–0.9
	Осень		< 0.22–0.52	< 0.17–0.8
Средний Байкал	Весна	ДнБФ	0.20–0.8	0.15–1.5
	Осень		0.15–0.5	< 0.14–0.4
	Весна	ДЭГФ	< 0.22–1.5	0.15–1.6
	Осень		0.22–1.6	< 0.14–2.2
Северный Байкал	Весна	ДнБФ	< 0.15–1.6	0.16–1.3
	Осень		0.23–1.0	0.15–0.8
	Весна	ДЭГФ	< 0.22–0.8	< 0.17–0.9
	Осень		< 0.22–0.6	0.20–1.1

¹Определение ПФ в лаборатории ЛИН СО РАН в рамках комплексного мониторинга СОЗ в байкальских водах. Методика включает отбор проб воды объемом 1 л, ЖЖЭ фталатов *n*-гексаном и прямой анализ экстрактов методом ГХ-МС [6].

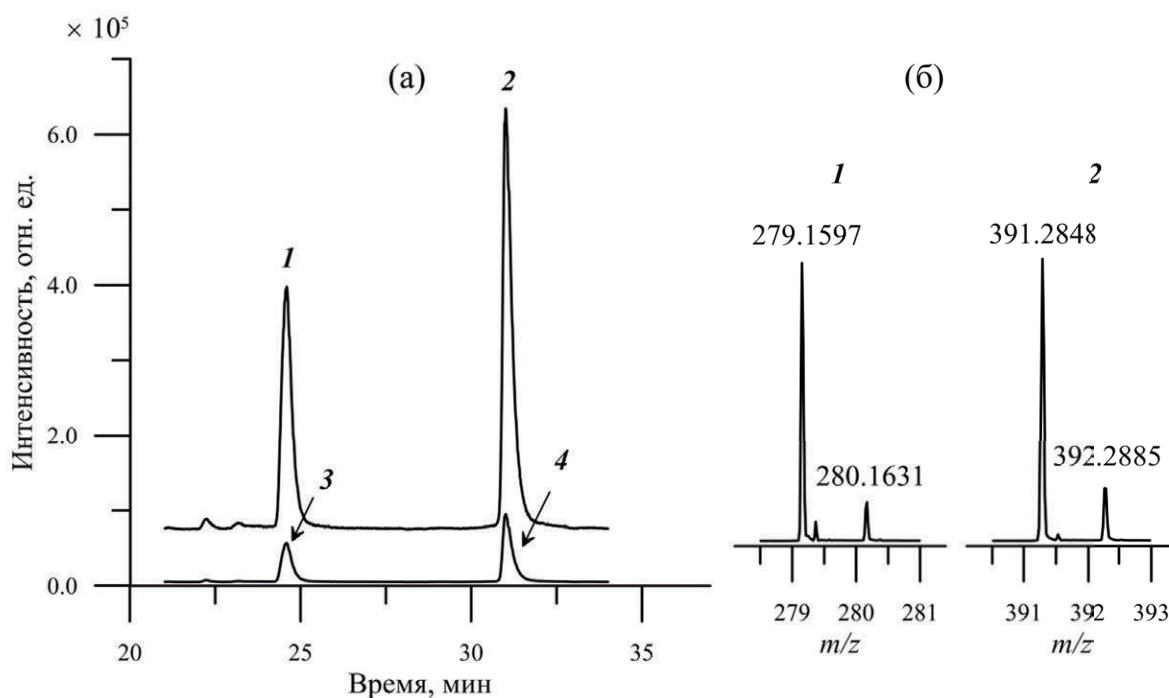


Рис. 3. (а) Хроматограммы по заданному ионному току, пики: 1 – ДнБФ- ^{12}C , 2 – ДЭГФ- ^{12}C , 3 – ДнБФ- ^{13}C , 4 – ДЭГФ- ^{13}C . Колонка 2×75 мм, Nucleosil 100-5-C18. Элюенты: А – 0.1%-ная муравьиная кислота в воде; В – 0.1%-ная муравьиная кислота в ацетонитриле, градиент элюента В от 30% до 100% за 20 мин, затем 100% в течение 15 мин, скорость потока 200 мкл/мин. Объем образца 10 мл, проба байкальской воды, собранной из-под льда, март 2023 г. (б) Масс-спектры: 1 – ДнБФ, 2 – ДЭГФ.

тов измерений величины $\Delta^{13}\text{C}$ и ее идентификации, поскольку вклад фталатов лабораторного фона на стадии подготовки проб (главным образом антропогенного генезиса) минимален. Пики фталатов из лабораторного фона, регистрируемые в холстых опытах, рассматривают в качестве систематической погрешности и вычитают из соответствующих пиков аналитов при обработке хроматограмм. Добавление муравьиной кислоты в элюенты для протонирования аналитов (регистрируются в форме $[\text{M}+\text{H}]^+$) не оказывает негативного влияния на форму пиков, однако незначительно снижает время их удерживания. Показано, что при концентрации фталатов в пробе воды в диапазоне от 0.2 до 2.0 мкг/л стандартное отклонение значений $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ не превышает ± 0.32 и $\pm 0.68\%$ для ДнБФ и ДЭГФ соответственно в одной серии экспериментов.

Значение $\Delta^{13}\text{C}$ рассчитывают относительно отношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в коммерческих фталатах ДнБФ и ДЭГФ в качестве стандартов. Принимая во внимание природное содержание изотопа ^{13}C (1.09%) и расчетные отношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C} \sim 17$ и 26% для ДнБФ и ДЭГФ соответственно, измеренные средние значения отношений $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в коммерческих стандартах ДнБФ и ДЭГФ характеризуются заниженными значениями $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$: 14.01 ± 0.47 и $21.33 \pm 0.55\%$. В результате значения $\Delta^{13}\text{C}$ не соответствуют величинам $\delta^{13}\text{C}$, которые могут быть рассчитаны с использованием международного стандарта изотопного состава

углерода (VPDB) и поэтому дают качественную оценку происхождения обнаруженных фталатов (биогенных/абиогенных).

Биогенные фталаты идентифицировали по величине $\Delta^{13}\text{C}$ на примере ДЭГФ, который отнесен к числу потенциальных канцерогенов [27] и в ряду ПФ отличается низким уровнем ПДК (8.0 мкг/л в питьевой воде). Для качественной оценки результатов измерения отношения изотопов углерода $\Delta^{13}\text{C}$ в структуре ДЭГФ установлены следующие пограничные значения:

- отношение изотопов $\Delta^{13}\text{C}$ в структуре ДЭГФ, обнаруженного в очищенных сточных водах, в свежеснежавшем снеге на городской территории, принято за условный антропогенный уровень и фталат с таким отношением отнесен к антропогенному фталату ($\Delta^{13}\text{C} = 5.7\text{‰}$);
- отношение изотопов $\Delta^{13}\text{C}$ ДЭГФ, обнаруженного в фитопланктоне, в клетках биомассы *Aconitum baicalense* [28], принято за условный биогенный уровень и фталат с таким отношением отнесен к биогенному фталату ($\Delta^{13}\text{C} = -50.16\text{‰}$);
- фталаты, для которых получены промежуточные значения $\Delta^{13}\text{C}$, идентифицированы как сумма фталатов, поступивших как из биогенных, так и абиогенных источников.

Измерение отношения $\Delta^{13}\text{C}$ в составе ДЭГФ подтверждает его биогенные и абиогенные источники в водной экосистеме озера Байкал. Например, в южной и северной котловинах озера ДЭГФ обнаружен на сопоставимом уровне концентраций

0.21 мкг/л, но отношение $\Delta^{13}\text{C}$ указывает на более существенный вклад биогенных источников в северной (–30‰) котловине по сравнению с южной (–15‰). В воде притоков южной котловины озера — р. Солзан и р. Снежная — концентрация ДЭГФ зафиксирована на уровне 0.25–0.34 мкг/л. Измерение изотопного состава показало наличие значимого вклада ДЭГФ в воды р. Солзан из биогенных источников ($\Delta^{13}\text{C} = -20\text{‰}$) и доминирование антропогенных источников ДЭГФ ($\Delta^{13}\text{C} = +5.6\text{‰}$) в р. Снежная. Экстремальные концентрации ДЭГФ (1.7–5.8 мкг/л, $\Delta^{13}\text{C} = -24\text{‰}$) в пробах, отобранных весной из-под льда, связаны, очевидно, с вкладом биогенных источников — цветением диатомовых водорослей в этот период года.

* * *

Таким образом, метод ОФ ВЭЖХ онлайн устраняет главную проблему, связанную с влиянием лабораторного фона на результат определения фталатов. Метод валидирован: для количественного определения ДнБФ и ДЭГФ — доминирующих фталатов в поверхностных водах — в диапазоне концентраций от 0.15 до 6.0 мкг/л с точностью ± 8 10–20%; для качественной оценки отношения стабильных изотопов углерода $\Delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в составе ДнБФ и ДЭГФ при их концентрации в пробе ≥ 0.2 мкг/л с величиной s , равной 0.68%. Методика определения ПФ методом ОФ ВЭЖХ онлайн опробована в полевых условиях с применением портативного жидкостного хроматографа, оценены диапазоны концентраций ДнБФ (от < 0.15 до 1.6 мкг/л) и ДЭГФ (от < 0.22 до 1.6 мкг/л) в прибрежной зоне озера Байкал. Установлены пограничные значения отношения изотопов $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ для качественной оценки результатов измерения величины $\Delta^{13}\text{C}$ в структуре ДЭГФ и доказано его поступление в воды озера Байкал из биогенных и абиогенных источников. Метод ОФ ВЭЖХ онлайн открывает новые перспективы исследования СОЗ данного класса в природных объектах. В частности, в снежном покрове южного побережья Байкала обнаружен ДЭГФ в интервале концентрации от < 0.07 до 0.44 мкг/л, в дождевой воде, собранной на городской территории, — в интервале концентраций от 0.64 до 2.5 мкг/л.

Авторы благодарны с. н. с., к. х. н. Г. А. Федоровой за помощь и консультации в проведении ВЭЖХ анализа.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено в рамках госзадания Министерства науки и высшего образования РФ, проект № 0279–2021–0005 (№ гос.регистрации 121032300224–8) на оборудовании приборного центра коллективного пользования физико-химического ультрамикрoанализа Лимнологиче-

ского института СО РАН (ЦКП “Ультрамикрoанализ”).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Annual production of plastics worldwide. <https://www.statista.com/statistics/282732/global-production-of-plastics-since-1950> (21.10.2023).
2. Karim A.V., Krishnan S., Sethulekshmi S., Shriwastav A. Phthalate esters in the environment: An overview on the occurrence, toxicity, detection, and treatment options / New Trends in Emerging Environmental Contaminants / Eds. S.P. Singh, A.K. Agarwal, T. Gupta, S.M. Maliyekkal Singapore: Springer, 2022. P. 131. https://doi.org/10.1007/978-981-16-8367-1_7
3. Benjamin S., Pradeep S., Josh M.S., Kumar S. A monograph on the remediation of hazardous phthalates // J. Hazard. Mater. 2015. V. 298. P. 58. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.05.004>
4. Priority Pollutant List EPA USA. 2015. <http://www.epa.gov/sites/default/files/2015-09/documents/priority-pollutant-list-epa.pdf> (21.10.2023).
5. Mondal T., Mondal S., Ghosh S.-K., Pal P., Soren T., Pandey S., Maiti T.-K. Phthalates — A family of plasticizers, their health risks, phytotoxic effects, and microbial bioaugmentation approaches // Environ. Res. 2022. V. 214 (Pt 3). Article 114059. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114059>
6. Gorshkov A., Grigoryeva T., Bukin Y., Kuzmin A. Case study of diesters of *o*-phthalic acids in surface waters with background level of pollution // Toxics. 2023. V. 11. № 10. P. 869. <https://doi.org/10.3390/toxics11100869>
7. Net S., Delmont A., Sempere R., Paluselli A., Oudane B. Reliable quantification of phthalates in environmental matrices (air, water, sludge, sediment and soil): A review // Sci. Total Environ. 2015. V. 515–516. P. 162. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.013>
8. US EPA Method 8270D. Semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry (GC-MS).
9. Методические указания 4.1. Методы контроля. Химические факторы. Хромато-масс-спектрометрическое определение фталатов и органических кислот в воде. МУК 4.1.738–99.
10. МВИ массовых концентраций фталатов в пробах питьевых, природных и сточных вод. Метод хромато-масс-спектрометрии. ЦВ 3.26.60–2005. ФР.1.31.2006.02150.

11. МВИ массовой концентрации эфиров фталевой кислоты в питьевых и природных водах методом хромато-масс-спектрометрии. МП УВК 1.89-2014. ФР.1.31.2015.20196.
12. *Andrade-Eiroa A., Canle M., Leroy-Cancellieri V., Cerdà V.* Solid phase extraction of organic compounds: a critical review. Part I // *Trends Anal. Chem.* 2016. V. 80. P. 641.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.08.015>
13. *Andrade-Eiroa A., Canle M., Leroy-Cancellieri V., Cerdà V.* Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review. Part II // *Trends Anal. Chem.* 2016. V. 80. P. 655.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.08.014>
14. *Зайцев В.Н., Зуй М.Ф.* Твердофазное микроэкстракционное концентрирование // *Журн. аналит. химии.* 2014. Т. 69. № 8. С. 1. (*Zaitsev V.N., Zui M.F.* Solid-phase microextraction concentration // *J. Anal. Chem.* 2014. V. 69. № 8. P. 715.)
<https://doi.org/10.1134/S1061934814080139>
15. *Крылов В.А., Крылов А.В., Мосягин П.В., Маткивская Ю.О.* Жидкофазное микроэкстракционное концентрирование примесей // *Журн. аналит. химии.* 2011. Т. 66. № 4. С. 341. (*Krylov V.A., Krylov A.V., Mosyagin P.V., Matkivskaya Yu.O.* Liquid-phase microextraction concentration of impurities // *J. Anal. Chem.* 2011. V. 66. № 4. P. 331.)
<https://doi.org/10.1134/S1061934811040101>
16. *Lee M.-R., Lai F.-Y., Dou J., Lin K.-L., Chung L.-W.* Determination of trace leaching phthalate esters in water and urine from plastic containers by solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry // *Anal. Lett.* 2011. V. 44. № 4. P. 676.
<https://doi.org/10.1080/00032711003783077>
17. *Крылов В.А., Волкова В.В.* Определение *o*-фталатов в воде с хромато-масс-спектрометрическим детектированием и концентрированием с ультразвуковым диспергированием экстрагента // *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского.* 2014. № 1(1). С. 119.
18. *Зенкевич И.Г., Ротару К.И., Селиванов С.И., Костиков Р.Р.* Дискуссионные моменты определения диалкилфталатов в различных объектах // *Вестник СПбГУ.* 2015. Т. 2. № 60. С. 386.
19. *Prokupkova G., Holadova K., Poustka J., Hajšlova J.* Development of a solid-phase microextraction method for the determination of phthalic acid esters in water // *Anal. Chim. Acta.* 2002. V. 457. P. 211.
20. *Барам Г.И., Азарова И.Н., Горшков А.Г., Верещачагин А.Л., Ланг Б., Кирюхина Е.Д.* Определение бис-(2-этилгексил)фталата в воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с прямым концентрированием на хроматографической колонке // *Журн. аналит. химии.* 2000. Т. 55. № 8. С. 834. (*Baram G.I., Azarova I.N., Gorshkov A.G., Vereshchagin A.L., Lang B., Kiryukhina E.D.* Determination of bis-(2-ethylhexyl) phthalate in water by high-performance liquid chromatography with direct on-column pre-concentration // *J. Anal. Chem.* 2000. V. 55. № 8. P. 750.)
21. *Горшков А.Г., Маринайте И.И., Барам Г.И., Соков И.А.* Применение высокоэффективной жидкостной хроматографии на коротких колонках малого диаметра для определения приоритетных полициклических ароматических углеводородов в объектах окружающей среды // *Журн. аналит. химии.* 2003. Т. 58. № 8. С. 861. (*Gorshkov A.G., Marinaite I.I., Baram G.I., Sokov I.A.* Application of high-performance liquid chromatography on short small-diameter column to the determination of priority aromatic hydrocarbons in environmental samples preconcentration // *J. Anal. Chem.* 2003. V. 58. № 8. P. 768.)
22. Атлас "Байкал". Омск: Омская картографическая фабрика, 1993. С. 90.
23. *Горшков А.Г., Бабенко Т.А., Кустова О.В., Изосимова О.Н., Шишлянников С.М.* Приоритетные фталаты в пелагиали и прибрежной зоне озера Байкал // *Химия в интересах устойчивого развития.* 2017. Т. 25. № 4. С. 375.
<https://doi.org/10.15372/KhUR20170403>
24. *Fiedziukiewicz M., Hanley Q.* Compound specific isotope analysis (CSIA) of phthalates and non-targeted isotope analysis (NTIA) of SPE-extractable organic carbon in dilute aquatic environments // *Environ. Adv.* 2021. V. 4. Article 100050.
<https://doi.org/10.1016/j.envadv.2021.100050>
25. *Blessing M., Baran N.* A review on environmental isotope analysis of aquatic micropollutants: recent advances, pitfalls and perspectives // *Trends Anal. Chem.* 2022. V. 157. № 9. Article 116730.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116730>
26. *Kuzmin A., Grigorieva T., Gorshkov A.* Assessment of stable carbon isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio in phthalates from surface waters using HPLC-HRMS-TOF approach // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2023. V. 30. P. 87734.
<https://doi.org/10.1007/s11356-023-28494-w>
27. IARC. Agents Classified by the IARC Monographs. Geneva, Switzerland: IARC Monographs, 2011. V. 1–102.
28. *Еникеев А.Г., Семенов А.А., Пермяков А.В., Соколова Н.А., Гамбург К.З., Дударева Л.В.* Биосинтез диалкиловых эфиров орто-фталевой кислоты в растениях и в культурах клеток // *Прикладная биохимия и микробиология.* 2019. Т. 55. № 3. С. 282. (*Enikeev A.G., Semenov A.A., Permyakov A.V., Sokolova N.A., Gamburg K.Z., Dudareva L.V.* Biosynthesis of ortho-phthalic acid esters in plant and cell cultures // *Appl. Biochem. Microb.* 2019. V. 55. № 3. P. 294.)

VALIDATION OF THE HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY METHOD FOR THE DETERMINATION OF PHTHALATES IN WATER AT THE TRACE LEVEL ONLINE

T. A. Grigorieva^{a, *}, A. V. Kuzmin^a, A. G. Gorshkov^a

^a *Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
3 Ulan-Batorskaya Str., 664033 Irkutsk, Russia*

^{*} *E-mail: krom_07@mail.ru*

Abstract. A method for determining phthalates in water has been validated, including sorption of hydrophobic components of the sample on a liquid chromatograph column and separation of concentrated analytes by reverse-phase HPLC online: for quantitative determination of priority phthalates (**PPs**) in surface waters at the trace level; qualitative assessment of the ratio of stable carbon isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in PP composition. The absence of the contribution of PP from the laboratory background to the measurement results is shown. The limits of determination (0.15–0.22 $\mu\text{g/l}$) and the accuracy of determination ($\pm\delta = 10\text{--}20\%$) were established when using the method of reverse-phase HPLC online and UV detection of analytes. The boundary values of the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio are substantiated for a qualitative assessment of the results of measuring the value of $\Delta^{13}\text{C}$ in the structure of di(2-ethylhexyl)phthalate and its entry into the waters of Lake Baikal from biogenic and abiogenic sources is detected. The method of determining PP by reverse-phase HPLC with UV detection online in the field on a portable liquid chromatograph was tested, the concentration ranges of di-n-butyl phthalate (from 0.15 to 1.6 $\mu\text{g/l}$) and di(2-ethylhexyl)phthalate (from 0.22 to 1.6 $\mu\text{g/l}$) in the coastal zone of Lake Baikal were estimated.

Keywords: priority phthalates, microextraction and HPLC online, UV detection, high-resolution mass spectrometry, Lake Baikal.

УДК 543.054:[547.6:612.46]

ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИДРОКСИЛИРОВАННЫХ ПОЛИАРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ В МОЧЕ С ПОМОЩЬЮ ДИСПЕРСИОННОЙ ЖИДКОСТНО-ЖИДКОСТНОЙ МИКРОЭКСТРАКЦИИ И ДЕРИВАТИЗАЦИИ В ПОРТУ ИНЖЕКТОРА

© 2024 г. А. Н. Алексеенко^{а, *}, О. М. Журба^а, А. В. Меринов^а, С. Ф. Шаяхметов^а

^аВосточно-Сибирский институт медико-экологических исследований

12-а мкр-н, 3, 665826 Ангарск, Россия

* E-mail: alexeenko85@mail.ru

Поступила в редакцию 06.02.2024 г.

После доработки 27.04.2024 г.

Принята к публикации 28.04.2024 г.

Разработана простая, экспрессная и чувствительная методика определения гидроксилированных полициклических ароматических углеводородов (2-гидроксинафталина, 2-гидроксифлуорена, 9-гидроксибенз[а]антрацена, 3-гидроксибенз[а]антрацена, 2-гидроксибенз[а]антрацена, 1-гидроксибенз[а]антрацена, 6-гидроксибенз[а]антрацена) в моче методом газовой хромато-масс-спектрометрии. Пробоподготовка основана на дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции трихлорметаном в кислой среде. Дериватизация осуществляется в разогретом порту инжектора реагентом N,O-бистриметилсилилтрифторацетамидом. Экспериментально выбран тип диспергирующего растворителя, а с помощью трехфакторного эксперимента установлено оптимальное соотношение следующих факторов: значения pH, объема диспергирующего растворителя, времени экстракции. Для хромато-масс-спектрометрического анализа применяли высокотемпературную капиллярную колонку НТ-8 в режиме температурного градиента. Установлен диапазон линейности градуировочной функции 0.5–100 нг/мл. Разработанная методика определения гидроксилированных ПАУ в моче опробована на образцах мочи работников производства алюминия.

Ключевые слова: гидроксилированные полиароматические углеводороды, дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция, силилирование в порту инжектора, моча.

DOI: 10.31857/S0044450224100086, EDN: TEYDJE

Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) метаболизируются в полярные гидроксилированные производные (ОН-ПАУ) с помощью оксидазной системы со смешанными функциями в присутствии молекулярного кислорода и никотинамидадениндинуклеотида или никотинамидадениндинуклеотидфосфата [1, 2].

Опубликовано несколько работ по определению метаболитов ПАУ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [3, 4]. Тем не менее газовая хромато-масс-спектрометрия (ГХ-МС) имеет преимущества из-за ее высоких селективности, чувствительности и эффективности разделения [5, 6]. ГХ-МС-методы определения полярных метаболитов ПАУ требуют дериватизации для преобразования их в неполярные и летучие производные.

Силилирование — наиболее часто используемый метод дериватизации для превращения полярных метаболитов ПАУ в неполярные производные. Однако применение силилирования имеет ряд недостатков: для дериватизации требуются строго безводные условия, поскольку и реагент, и производные склонны к гидролизу; время реакции силилирования составляет от 30 до 60 мин; для завершения реакции необходимо повышение температуры (до 60°C).

Существует вариант онлайн дериватизации, а именно: силилирование в порту инжектора (ИПС), который лишен ограничений традиционного силилирования во флаконе [7, 8]. Процесс ИПС включает реакцию в газовой фазе между силилирующим реагентом и полярным аналитом, которая происходит внутри разогретого порта

инжектора ГХ или ГХ-МС. Это почти мгновенная реакция, завершающаяся в течение нескольких секунд внутри горячего инъекционного порта ГХ, что снижает возможность разложения производных, при этом их воздействие на окружающую среду незначительно. Дополнительные комплектующие экспериментального оборудования, такие как нагревательный блок или термостат и реакционные сосуды, не требуются для ИПС, поскольку реагент и аналит вводятся одновременно внутрь порта инжектора ГХ-МС. Кроме того, значительно сокращаются необходимые количества дериватирующего реагента и образца. Эффективность дериватизации в реальном времени также повышается по сравнению с дериватизацией в автономном режиме, что впоследствии приводит к увеличению чувствительности и точности метода.

Способы пробоподготовки, такие как жидкостно-жидкостная экстракция и твердофазная микроэкстракция (ТФМЭ), широко используются для извлечения метаболитов ПАУ из различных проб [8–12]. Так, например, пробоподготовка в ГХ-МС-методике определения гидроксилированных ПАУ основана на извлечении аналитов жидкостной экстракцией гексаном с последующим упариванием экстракта в токе азота при комнатной температуре и дериватизации сухого остатка реагентом N,O-бистриметилсилилтрифторацетамид (БСТФА) при 90°C в течение 45 мин [13]. К недостаткам данной методики можно отнести длительность процедур экстракции и дериватизации и возможность потерь 2-, 3-ядерных ОН-ПАУ в процессе упаривания экстракта. В методике определения гидроксилированных ПАУ с применением ТФМЭ требуется длительная выдержка волокна от 45 мин до 12 ч, что делает ее неприменимой для рутинного анализа [14].

Дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция (ДЖЖМЭ) — экспрессный, экологичный, экономичный и простой способ пробоподготовки, который широко применяют для экстракции органических аналитов из различных матриц сложной природы [15–22]. Так, например, методика ГХ-МС-определения ОН-ПАУ в донных отложениях включает ускоренную экстракцию из твердой матрицы смесью вода–ацетонитрил (80 : 20, по объему) при 150°C и давлении 1500 psi в течение 10 мин, последующую дисперсионную жидкостно-жидкостную микроэкстракцию хлорбензолом (100 мкл) из водно-ацетонитрильной смеси, упаривание экстракта до сухого остатка, силилирование сухого остатка реагентом метил(*трет*-бутил)диметилсилилтрифторацетамидом (МТБСТФА) при 60°C в течение 1 ч с получением *трет*-бутилдиметилсилильных производных [23]. Однако данный способ обладает рядом недостатков, к которым можно отнести возможность потерь легких ОН-ПАУ в процессе

упаривания экстракта до сухого остатка, длительность силилирования (1 ч) ОН-ПАУ в сухом остатке и значительное время ГХ-МС-анализа (48 мин). Анализ применяемых условий определения ОН-ПАУ в моче показал, что во всех методиках используется длительная дериватизация во флаконе, а ДЖЖМЭ применяется редко.

Цель настоящей работы — разработка методики ГХ-МС-определения ОН-ПАУ (2-гидроксинафталина, 2-гидроксифлуорена, 9-гидроксифенантрена, 3-гидроксифенантрена, 2-гидроксифенантрена, 1-гидроксипирена, 6-гидроксихризена) в моче с использованием ДЖЖМЭ и силилирования в порту инжектора.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Аппаратура. Газовый одноквадрупольный хромато-масс-спектрометр Agilent 7890/5975C с ионизацией электронным ударом, оснащенный автосамплером Agilent 7693 и капиллярной колонкой НТ-8 (30 м × 0.25 мм, 0.25 мкм); блочный термостат Stuart (30–130°C) и центрифуга Eppendorf 5804.

Стандарты и реактивы. 2-гидроксинафталин (99.8%, Fluka, Швейцария), 2-гидроксифлуорен (98%, Aldrich, США), 9-гидроксифенантрен (98.2%, Aldrich, США), 3-гидроксифенантрен (99.5%, Dr. Ehrenstorfer, Германия), 2-гидроксифенантрен (94%, Dr. Ehrenstorfer, Германия), 1-гидроксипирен (98.2%, Aldrich, США), 6-гидроксихризен (99.8%, Dr. Ehrenstorfer, Германия), ацетонитрил (Криохром, Россия), 0.1 М соляная кислота, дистиллированная вода, этанол (96%), ацетон (Экос, Россия), метанол, трихлорметан перегнанный х.ч. (Экос, Россия), водный раствор β-глюкуронидазы Helix Pomatia H-2 (> 85 000 ед/мл, Aldrich, США), силилирующие реагенты N,O-бистриметилсилилтрифторацетамид с 1% триметилхлорсилана и N-метилтретбутилдиметилсилилтрифторацетамид (Fluka, Швейцария).

Приготовление растворов. Исходный раствор ОН-ПАУ (1 мг/мл) готовили растворением точной навески в ацетонитриле. Разбавлением исходного раствора ОН-ПАУ ацетонитрилом получали раствор ОН-ПАУ с концентрацией 100 мкг/мл, из которого готовили растворы следующих концентраций: 40, 20, 10, 5, 2, 0.5 мкг/мл. Растворы ОН-ПАУ в моче (25 мл) с концентрациями 100, 40, 20, 10, 5, 2, 0.5 нг/мл готовили добавлением в мочу 25 мкл растворов ОН-ПАУ в ацетонитриле с концентрациями 100, 40, 20, 10, 5, 2, 0.5 мкг/мл.

Пробоподготовка. Во флакон емк. 5 мл с острым коническим дном вносили пробу мочи (2 мл), 20 мкл внутреннего стандарта (1-гидроксипирен-d9, 1 мкг/мл), 0.2–2 мл 0.1 М соляной кислоты, 100–500 мкл этанола (диспергирующий растворитель), 100 мкл трихлорметана (экстрагирующий растворитель); вручную встряхивали

в течение 5–25 с для образования эмульсии; центрифугировали при 5000 об/мин в течение 10 мин; переносили нижний (трихлорметановый) слой во флакон емк. 250 мкл и автоматически вводили микрошприцом в инъекционный порт хроматографа 3-фазную систему (1 мкл силилирующего реагента БСТФА, 0.2 мкл воздуха и 1 мкл трихлорметанового экстракта) для последующего ГХ-МС-анализа.

ГХ-МС-анализ осуществляли в капиллярной колонке НТ-8 (30 м × 0.25 мм, 0.25 мкм) в следующих условиях: температура испарителя 300°C; режим ввода образца без деления потока 0.7 мин; поток газа-носителя в колонке 1.2 мл/мин; режим термостата колонки: выдержка 100°C в течение 2 мин, подъем со скоростью 20 град/мин до 320°C, выдержка в течение 2 мин, температура интерфейса 320°C, ионного источника ЭИ 230°C, квадруполь 150°C; задержка включения нити накала 7 мин. Сбор хромато-масс-спектрометрической информации осуществляли в режиме мониторинга выделенных ионов.

Идентификацию проводили по времени удерживания и по соотношению интенсивностей

регистрируемых ионов (табл. 1). Для определения ОН-ПАУ предлагаемым способом использовали метод внутреннего стандарта и растворы известной концентрации ОН-ПАУ в моче в диапазоне от 0.5 до 100 нг/мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Хромато-масс-спектрометрия. Полученные производные ОН-ПАУ после силилирования реагентами БСТФА и МТБСТФА содержат триметилсилильную (ТМС) и *трет*-бутилдиметилсилильную группы (ТБДМС) соответственно. Сопоставили следующие хромато-масс-спектральные характеристики ТМС- и ТБДМС-производных аналитов: молекулярную массу (ММ), характерные ионы в масс-спектре (m/z) и линейные индексы удерживания (RI), оцененные по смеси *n*-алканов C₁₄–C₃₀ (табл. 2).

В случае ТМС-производных молекулярный ион, соответствующий молекулярной массе, наиболее интенсивный (100%), только для 2-ОН-нафталина его интенсивность составляет 76.5%. Для ТБДМС-производных интенсивность молекулярного иона колеблется от 25 до 84%. Линейные

Таблица 1. Данные для идентификации производных ОН-ПАУ на масс-хроматограммах

Аналит	t_R , мин	Основной ион, m/z (интенсивность, %)	Подтверждающий ион, m/z (интенсивность, %)
2-ОН-Нафталин	8.01	216 (76.5)	201 (100)
2-ОН-Флуорен	10.509	254 (100)	239 (69)
9-ОН-Фенантрен	11.264	266 (100)	251 (55)
3-ОН-Фенантрен	11.4	266 (100)	251 (59)
2-ОН-Фенантрен	11.618	266 (100)	251 (78)
1-ОН-Пирен	13.182	290 (100)	275 (22)
6-ОН-Хризен	14.3	316 (100)	301 (25)

Таблица 2. Хромато-масс-спектральные характеристики производных ОН-ПАУ

ОН-ПАУ	ММ	ТМС-производные			ТБДМС-производные		
		ММ	m/z	RI	ММ	m/z	RI
2-ОН-Нафталин	144	216	201 (100%), 216 (76.5%)	1636	258	201 (100%), 202 (29%), 258 (25%)	1897
2-ОН-Флуорен	182	254	254 (100%), 239 (69%)	2096	296	239 (100%), 165 (39%), 296 (45%)	2379
9-ОН-Фенантрен	194	266	266 (100%), 251 (55%)	2256	308	251 (100%), 235 (33%), 308 (38%)	2545
3-ОН-Фенантрен	194	266	266 (100%), 251 (59%)	2286	308	251 (100%), 308 (45%)	2566
2-ОН-Фенантрен	194	266	266 (100%), 251 (78%)	2335	308	251 (100%), 308 (37%)	2634
1-ОН-Пирен	218	290	290 (100%), 275 (22%)	2718	332	275 (100%), 332 (84%)	3039
6-ОН-Хризен	244	316	316 (100%), 301 (25%)	2972	358	301 (100%), 285 (36%), 358 (69%)	3259

индексы удерживания ТБДМС-производных превышают индексы ТМС-производных, что приведет к увеличению продолжительности анализа, если применять дериватизацию реагентом МТБСТФА. Отсюда следует, что наилучшими хромато-масс-спектральными характеристиками обладают ТМС-производные, и для силилирования ОН-ПАУ лучше использовать реагент БСТФА.

Силилирование БСТФА в порту инжектора. Поскольку силилирование происходит внутри порта инжектора системы ГХ-МС, температуру инжекционного порта можно рассматривать как температуру реакции силилирования. Влияние температуры порта инжектора на эффективность силилирования в виде максимальной площади пика ТМС-производного ОН-ПАУ исследовали в диапазоне 150–370°C (рис. 1). При повышении температуры порта инжектора от 150 до 300°C площади пиков всех производных ОН-ПАУ увеличиваются, однако при превышении 300°C не наблюдается значительного увеличения площадей пиков производных ОН-ПАУ. Также следует учесть то, что при температуре выше 350°C может разрушаться капиллярная колонка. В связи с этим 300°C выбрали в качестве оптимальной температуры порта инжектора при силилировании ОН-ПАУ реагентом БСТФА.

Дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция. В ДЖЖМЭ диспергирующий растворитель должен смешиваться как с экстрагентом, так и с водно-солевой фазой (пробой мочи). Роль диспергирующего растворителя заключается в диспергировании экстрагента в водно-солевой фазе в виде мелких капель и в образовании эмульсии (проба/диспергирующий растворитель/экстрагент). При образовании мутного раствора площадь контакта между экстрагентом и водной фазой

значительно увеличивается, что помогает быстро достичь равновесия и приводит к сокращению времени экстракции, повышению коэффициентов распределения и степени извлечения. Исходя из этого, для выбора лучшего диспергирующего растворителя сопоставили ацетон, ацетонитрил, этанол и метанол. При этом этанол показал самую высокую степень извлечения R для всех метаболитов ОН-ПАУ, кроме 2-ОН-нафталина (рис. 2).

Другими факторами, влияющими на ДЖЖМЭ, являются pH пробы, объем этанола, время экстракции. Кислотность пробы регулировали, внося определенные количества 0.1 М соляной кислоты и дистиллированной воды. Например, для достижения pH 1.6 к 2 мл пробы добавляли 2 мл 0.1 М HCl, а pH 4.8 – 0.2 мл 0.1 М HCl и 1.8 мл дистиллированной воды. Данные факторы оптимизировали с помощью математического планирования эксперимента [24] (табл. 3). В многофакторном эксперименте одновременно варьировали три фактора по заданному плану. Матрица планирования состояла из восьми опытов. За параметр оптимизации у приняли степень экстракции, которую рассчитывали как отношение экспериментально измеренной массы аналита в экстракте к введенной массе аналита в образец мочи. Каждый опыт в матрице планирования повторяли два раза. Статистическим путем получили уравнения, представленные в табл. 4.

Интерпретация математических моделей извлечения ОН-ПАУ показала, что с увеличением pH степень экстракции уменьшается. Только для 2-гидроксинафталина величина pH не вносит вклад в степень экстракции, что можно объяснить тем, что 2-гидроксинафталин по сравнению с другими ОН-ПАУ более полярное и лучше раствори-

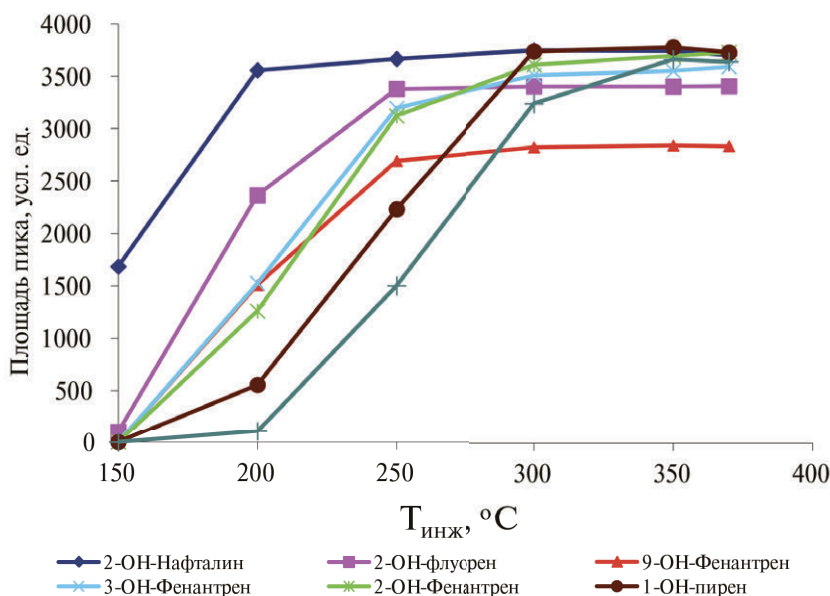


Рис. 1. Зависимость площади пика триметилсилильного производного ОН-ПАУ от температуры инжектора.

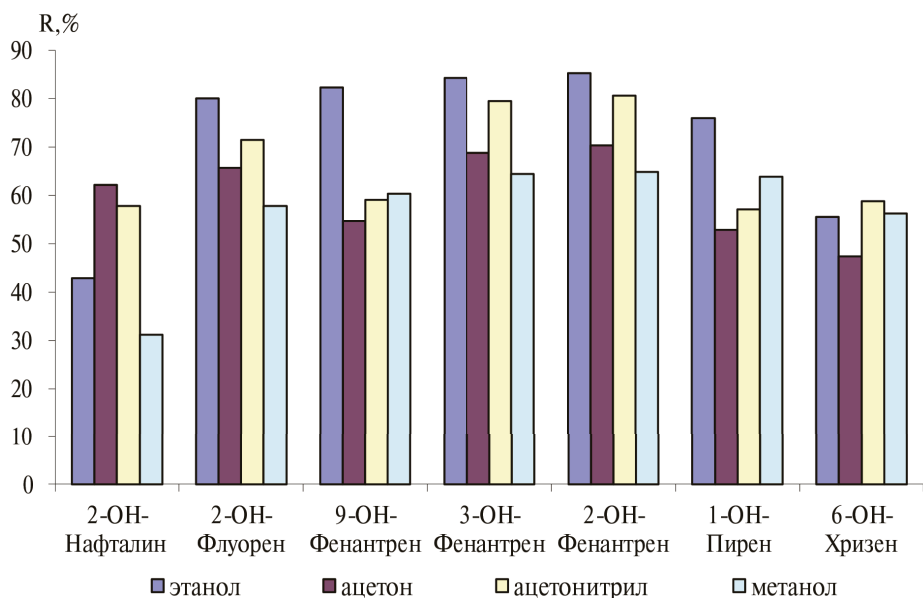


Рис. 2. Зависимость степени извлечения ОН-ПАУ из мочи от природы диспергирующего растворителя.

мое в воде соединение. Увеличению степени экстракции способствуют увеличение объема диспергирующего растворителя (этанола) и времени экстракции. Следует также отметить, что при увеличении времени экстракции вклад величины рН и объема этанола уменьшается. Подставляя в уравнения кодированные значения факторов, рассчитали теоретические значения степени экстракции, которые

показали, что степень экстракции возрастает с увеличением времени экстракции (табл. 5).

Таким образом, оптимальные условия ДЖ-ЖМЭ ОН-ПАУ из мочи следующие: рН 1.6, объем этанола 300 мкл, время экстракции 25 с.

Метрологические характеристики. Установили следующие характеристики: предел обнаружения, предел количественного определения, линейный

Таблица 3. Условия планирования трехфакторного эксперимента по дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции

Фактор	Нулевой уровень	Интервал варьирования	Нижний уровень фактора	Верхний уровень фактора
x_1 — рН	3.2	1.6	1.6	4.8
x_2 — объем этанола, мкл	300	200	100	500
x_3 — время экстракции, с	15	10	5	25

Таблица 4. Математические модели процесса дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции ОН-ПАУ

Аналит	Уравнение математической модели
2-ОН-Нафталин	$y = 62.3 + 6.1x_2 + 11.6x_3$
2-ОН-Флуорен	$y = 85 - 3.7x_1 + 12.07x_2 + 22x_3$
9-ОН-Фенантрен	$y = 86.3 - 4.7x_1 + 15.08x_2 + 12.8x_3 - 2.4x_1x_2 - 2.4x_1x_3$
3-ОН-Фенантрен	$y = 101 - 4.6x_1 + 13.7x_2 + 25.5x_3 - 1.76x_1x_2 - 2.6x_1x_3 - 2.6x_2x_3$
2-ОН-Фенантрен	$y = 101 - 3.71x_1 + 13.4x_2 + 25x_3 - 2.2x_1x_2 - 2.5x_1x_3 - 2.7x_2x_3$
1-ОН-Пирен	$y = 85 - 5.2x_1 + 16.6x_2 + 10.2x_3 - 3.3x_1x_2 - 3.5x_1x_3 - 3.05x_1x_2x_3$
6-ОН-Хризен	$y = 63 - 4.3x_1 + 13.3x_2 - 2.9x_1x_3 - 3.4x_1x_2x_3$

Таблица 5. Условия экспериментов и теоретические значения степени экстракции

№ опыта	рН	Объем этанола, мкл	t , с	Степень экстракции, %						
				2-ОН-нафталин	2-ОН-флуорен	9-ОН-фенатрен	3-ОН-фенатрен	2-ОН-фенантрен	1-ОН-пирен	6-ОН-хризен
1	1.6	300	5	50.7	66.7	75.5	77.5	79.7	76.5	64.4
2	1.6	300	15	62.3	88.7	90.7	105.6	104.7	90.2	67.3
3	1.6	300	25	73.9	110.7	105.9	133.7	129.7	103.9	70.2

диапазон, повторяемость, внутрилабораторная прецизионность, правильность, селективность.

Предел обнаружения и предел количественного определения рассчитывали по соотношению сигнал/шум (табл. 6). Линейный диапазон установили по шести модельным образцам мочи с раз-

ными концентрациями ОН-ПАУ (0.5, 2, 5, 10, 40, 100 нг/мл), коэффициент корреляции $r > 0.999$. Приемлемый критерий для r не ниже 0.990. Таким образом, линейный диапазон составил от 0.5 до 100 нг/мл. Прецизионность и правильность оценивали для трех образцов мочи с введенными концентрациями ОН-ПАУ 0.5, 10 и 40 нг/мл, каждый образец анализировали четыре раза в течение пяти дней. По результатам анализа рассчитали относительное стандартное отклонение (s_r , %) повторяемости и внутрилабораторной прецизионности, оценили значимость систематической погрешности по t -критерию (табл. 7). Расчетные значения t -критерия соответствовали условию $t_{\text{расч}} < t_{\text{табл}}$ ($t_{\text{табл}}(0.05; 15) = 2.13$), что говорит о незначимости систематической погрешности. Исключение составили 2-ОН-нафталин для концентрации 0.5 нг/мл и 9-ОН-фенантрен для концентраций 0.5 и 40 нг/мл.

Таблица 6. Пределы обнаружения и количественного определения ОН-ПАУ в моче

Аналит	$c_{\text{мин}}$, нг/мл	$c_{\text{н}}$, нг/мл
2-Гидроксинафталин	0.05	0.2
2-Гидроксифлуорен	0.08	0.3
9-Гидроксифенантрен	0.16	0.5
3-Гидроксифенантрен	0.03	0.1
2-Гидроксифенантрен	0.03	0.1
1-Гидроксипирен	0.10	0.4
6-Гидроксихризен	0.09	0.3

Таблица 7. Прецизионность и правильность определения ОН-ПАУ в моче

Введено, нг/мл	Найдено, нг/мл	Повторяемость, s_r , % ($n = 4$)	Внутрилабораторная прецизионность s_r , % ($n = 5$)	$t_{\text{расч}}$
2-Гидроксинафталин				
0.5	0.58 ± 0.03	8.7	5.5	2.8
10	9.9 ± 0.8	4.6	8.2	0.1
40	38 ± 2	4.1	5.4	1.1
2-Гидроксифлуорен				
0.5	0.56 ± 0.08	7	14.3	1.4
10	10.04 ± 1.2	4.5	11.7	0.06
40	41 ± 3	4.0	8.1	0.66
9-Гидроксифенантрен				
0.5	0.60 ± 0.08	12.4	14	2.3
10	9.00 ± 0.94	6.4	10.4	1.5
40	33.8 ± 4.5	4.7	13.2	2.3
3-Гидроксифенантрен				
0.5	0.55 ± 0.11	10.2	20.5	0.84
10	10.7 ± 1.1	5.7	10.9	1.06
40	41 ± 3.3	5.2	8.1	0.50
2-Гидроксифенантрен				
0.5	0.51 ± 0.08	10.2	15.4	0.24
10	10.7 ± 1.1	5.6	10.8	0.87
40	40.9 ± 3.3	5.1	8.09	0.32
1-Гидроксипирен				
0.5	0.54 ± 0.05	2.5	8.7	1.3
10	10.1 ± 0.6	3.5	5.8	0.18
40	40.0 ± 1.6	3.9	4.1	0.03
6-Гидроксихризен				
0.5	0.47 ± 0.11	25.6	24.5	0.5
10	10 ± 0.6	5.2	5.8	0.08
40	38 ± 2	4.06	5.2	1.09

На рис. 3 приведена масс-хроматограмма образца мочи с концентрацией каждого ОН-ПАУ 10 нг/мл. Как видно, пики производных ОН-ПАУ узкие (полуширина пика 1.7 с), симметричные, не накладываются на пики других веществ.

Апробация методики. Разработанная методика определения ОН-ПАУ в моче опробована на образцах разовой порции мочи работников производства алюминия и контрольной группы (не контактирующие с ПАУ в производственных условиях). Предварительно осуществляли ферментативный гидролиз, добавляя 20 мкл β -глюкуронидазы к 2 мл образца мочи и выдерживая в течение 1 ч при 55°C. Далее проводили ДЖЖМЭ в выбранных оптимальных условиях: рН 1.6, объем этанола 300 мкл, время экстракции 25 с и анализировали образец методом ГХ-МС.

Благодаря повышенной селективности и чувствительности предлагаемого способа удалось определить содержание ОН-ПАУ в моче не только работников производства алюминия, но и лиц контрольной группы (табл. 8).

* * *

Для простого и экспрессного ГХ-МС-определения ОН-ПАУ в моче лиц, не контактирующих с ПАУ в производстве, применили сочетание ДЖЖМЭ с дериватизацией в порту

инжектора. Использование ДЖЖМЭ вместо классической жидкостной экстракции с упариванием экстракта упростило и ускорило пробоподготовку, а также обеспечило извлечение 70–100% аналитов. Благодаря силилированию в инъекционном порту удалось исключить стадию упаривания трихлорметанового экстракта и обеспечить экспрессность дериватизации. Быстрый ГХ-МС-анализ за 15 мин стал возможен благодаря высокотемпературной колонке НТ-8.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Восточно-сибирский институт медико-экологических исследований”. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Лица, включенные в исследования, получили информацию о целях обследования и подписали информированное согласие, выданное в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2008 г.). Они также были одобрены локальным этическим Комитетом по этике Восточно-сибирского института медико-

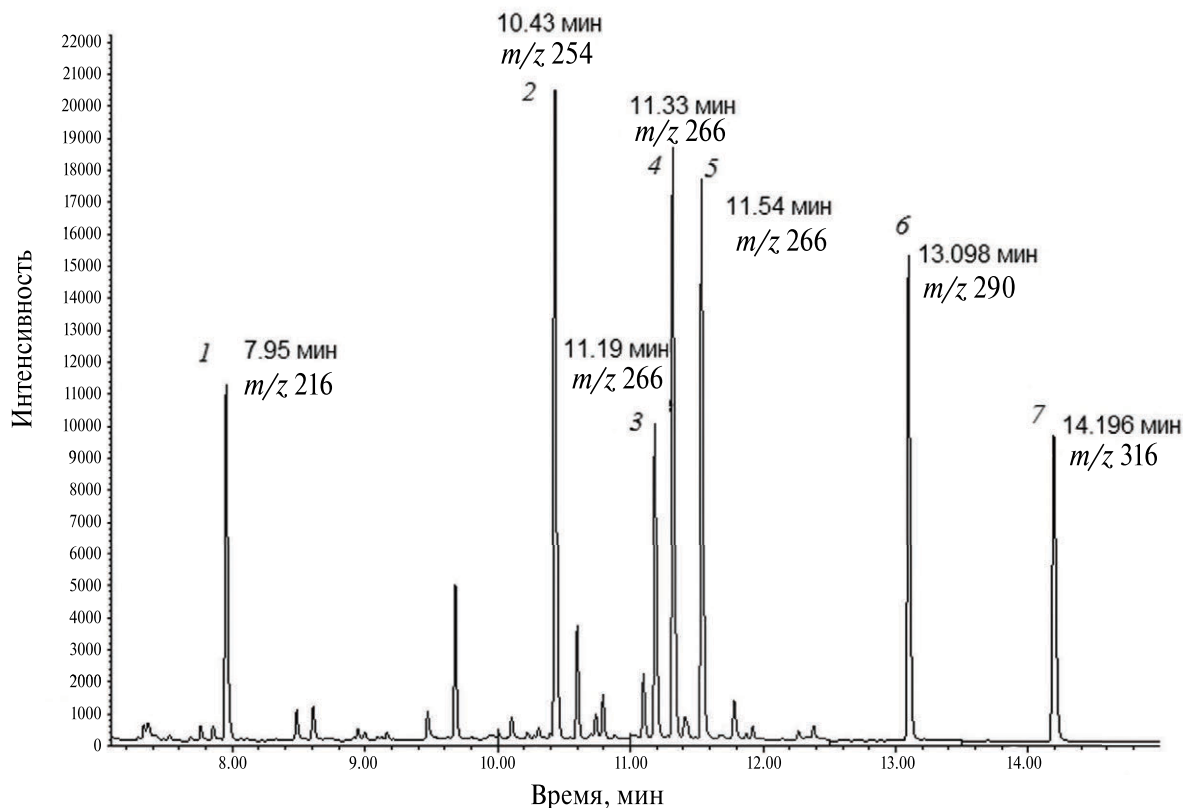


Рис. 3. Масс-хроматограмма образца мочи с концентрацией ОН-ПАУ 10 нг/мл. 1 – 2-гидрокси-нафталин, 2 – 2-гидрокси-флуорен, 3 – 9-гидрокси-фенантрен, 4 – 3-гидрокси-фенантрен, 5 – 2-гидрокси-фенантрен, 6 – 1-гидрокси-пирен, 7 – 6-гидрокси-хризен.

Таблица 8. Результаты определения ОН-ПАУ в моче

ОН-ПАУ	Концентрация (медиана), нг/мл	
	производство алюминия (<i>n</i> = 75)	контрольная группа (<i>n</i> = 22)
2-Гидроксинафталин	6.30	4.50
2-Гидроксифлуорен	6.70	0.95
9-Гидроксифенантрен	0.80	0.50
3-Гидроксифенантрен	4.30	0.56
2-Гидроксифенантрен	2.80	0.26
1-Гидроксипирен	9.70	0.58
6-Гидроксихризен	0.46	0.40

экологических исследований (г. Ангарск), Заключение № 6 от 16 ноября 2023 г.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hemminki K., Dickey C., Karlsson S., Bell D., Hsu Y., Tsai W.Y., Mooney L.A., Savela K., Perera F.P. Aromatic DNA adducts in foundry workers in relation to exposure, life style and CYP1A1 and glutathione transferase M1 genotype // *Carcinogenesis*. 1997. V. 18. P. 345.
2. Shaw G.R., Connell D.W. Prediction and monitoring of the carcinogenicity of polycyclic aromatic compounds (PACs) // *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 1994. V. 135 P. 1.
3. Jongeneelen F.J., Anzion R.B.M., Henderson P.T. Determination of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine // *J. Chromatogr.* 1987. V. 413. P. 227.
4. Bentsen-Farman R.K., Botnen I.V., Noto H., Jacob J., Ovrebo S. Detection of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites by high-pressure liquid chromatography after purification on immunoaffinity columns in urine from occupationally exposed workers // *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. 1999. V. 72. P. 161.
5. Carmella S.G., Le K.A., Hecht S.S. Improved method for determination of 1-hydroxypyrene in human urine // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2004. V. 13. P. 1261.
6. Santos F.J., Galceran M.T. Modern developments in gas chromatography-mass spectrometry-based environmental analysis // *J. Chromatogr. A*. 2003. V. 1000. P. 125.
7. Rasmussen K.E. Quantitative morphine assay by means of gas-liquid chromatography on-column silylation // *J. Chromatogr. A*. 1976. V. 120. P. 491.
8. Wang Q., Ma L., Yin C.R., Xu L. Developments in injection port derivatization // *J. Chromatogr. A*. 2013. V. 1296. P. 25.
9. Shin H.S., Lim H.Y. Simultaneous determination of 2-naphthol and 1-hydroxypyrene in urine by gas chromatography-mass spectrometry // *J. Chromatogr. B*. 2011 V. 879. P. 489.
10. Smith C.J., Huang W., Walcott C.J., Turner W., Grainger J., Patterson D.G. Quantification of monohydroxy-PAH metabolites in urine by solid-phase extraction with isotope dilution-GC-MS // *Anal. Bioanal. Chem.* 2002. V. 372. P. 216.
11. Wang Y., Zhang W., Dong Y., Fan R., Sheng G., Fu J. Quantification of several monohydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection // *Anal. Bioanal. Chem.* 2005. V. 383. P. 804.
12. Li Z., Romanoff L.C., Trinidad D.A., Hussain N., Jones R.S., Porter E.N., Donald G. Patterson Jr, Sjödin A. Measurement of urinary monohydroxy polycyclic aromatic hydrocarbons using automated liquid-liquid extraction gas chromatography/isotope dilution high-resolution mass spectrometry // *Anal. Chem.* 2006. V. 78. P. 5744.
13. Campo L., Rossella F., Fustinoni S. Development of a gas chromatography/mass spectrometry method to quantify several urinary monohydroxy metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in occupationally exposed subjects // *J. Chromatogr. B*. 2008. V. 875. P. 531.
14. Luan T., Fang S., Zhong Y., Lin L., Chan S.M.N., Lan C., Tam N.F.Y. Determination of hydroxyl metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons by fully automated solid-phase microextraction derivatization and gas chromatography-mass spectrometry // *J. Chromatogr. A*. 2007. V. 1173. P. 37.
15. Rezaee M., Assadi Y., Hosseini M.R.M., Aghaee E., Ahmadi F., Berijani S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction // *J. Chromatogr. A*. 2006. V. 1116. P. 1.
16. Rezaee M., Yamini Y., Faraji M. Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method // *J. Chromatogr. A*. 2010. V. 1217. P. 2342.
17. Nuhu A.A., Basheer C., Saad B. Liquid-phase and dispersive liquid-liquid microextraction techniques

- with derivatization: Recent applications in bioanalysis // *J. Chromatogr. B*. 2011. V. 879. P. 1180.
18. *Benede J.L., Chisvert A., Salvador A., Quiles D.S., Sanchez A.T.* Determination of UV filters in both soluble and particulate fractions of seawaters by dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry // *Anal. Chim. Acta*. 2014. V. 812. P. 50.
 19. *Campone L., Piccinelli A.L., Pagano I., Carabetta S., Sanzo R.D., Russo M., Rastrelli L.* Determination of phenolic compounds in honey using dispersive liquid-liquid microextraction // *J. Chromatogr. A*. 2014. V. 1334. P. 9.
 20. *Cortada C., Reis L.C.D., Vidal L., Llorca J., Canals A.* Determination of cyclic and linear siloxanes in wastewater samples by ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry // *Talanta*. 2014. V. 120. P. 191.
 21. *Tseng W.C., Chen P.S., Huang S.D.* Optimization of two different dispersive liquid-liquid microextraction methods followed by gas chromatography-mass spectrometry determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) analysis in water // *Talanta*. 2014. V. 120. P. 425.
 22. *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., Anyari 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.)
 23. *Wang X., Lin L., Yang L., Tam N.F.Y.* Determination of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments samples by combining subcritical water extraction and dispersive liquid-liquid microextraction with derivatization // *Anal. Chim. Acta*. 2012. V. 753. P. 57.
 24. *Смагунова А.Н., Пашкова Г.В., Белых Л.И.* Математическое планирование эксперимента в методических исследованиях аналитической химии. Иркутск: Изд-во ИГУ, 2015. 137 с.

CHROMATO-MASS SPECTROMETRIC DETERMINATION OF HYDROXYLATED POLYAROMATIC HYDROCARBONS IN URINE BY DISPERSION LIQUID-LIQUID MICROEXTRACTION AND DERIVATIZATION IN THE INJECTOR PORT

A. N. Alekseenko^{a,*}, O. M. Zhurba^a, A. V. Merinov^a, S. F. Shayakhmetov^a

^a*East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research
12-a district, 3, 665826 Angarsk, Russia*

*E-mail: alexeenko85@mail.ru

Abstract. A simple, rapid and sensitive method has been developed for the determination of hydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbons (2-hydroxynaphthalene, 2-hydroxyfluorene, 9-hydroxyphenanthrene, 3-hydroxyphenanthrene, 2-hydroxyphenanthrene, 1-hydroxypyrene, 6-hydroxychrizen) in urine by gas chromatography-mass spectrometry. Sample preparation is based on dispersion liquid-liquid microextraction with trichloromethane in an acidic medium. Derivatization is carried out in the heated port of the injector with the reagent N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide. The type of dispersing solvent was experimentally selected, and using a three-factor experiment, the optimal ratio of the following factors was established: pH values, volume of the dispersing solvent, and extraction time. For chromatography-mass spectrometric analysis, a high-temperature NT-8 capillary column was used in the temperature gradient mode. The linearity range of the calibration function is 0.5–100 ng/ml. The developed method for the determination of hydroxylated PACs in urine has been tested on urine samples of aluminum production workers.

Keywords: hydroxylated polyaromatic hydrocarbons, dispersion liquid-liquid microextraction, silylation in the injector port, urine.

ЮБИЛЕЙ АНАТОЛИЯ ГРИГОРЬЕВИЧА РЕВЕНКО



24 октября 2024 г. 80 лет Анатолию Григорьевичу Ревенко, известному специалисту в области рентгенофлуоресцентного анализа (РФА), доктору технических наук, ведущему научному сотруднику ЦКП “Геодинамика и геохронология” Института земной коры СО РАН.

А.Г. Ревенко родился на станции Сосыка-1 Павловского района Краснодарского края. В 1965 г. окончил физический факультет Ростовского-на-Дону госуниверситета по специальности “Физика”, где среди его преподавателей был один из самых известных рентгенофизиков СССР и России проф. М.А. Блохин. После окончания университета А.Г. Ревенко переехал в Иркутск и начал свою трудовую деятельность в Институте геохимии СО АН СССР. В 1965–1966 гг. служил в рядах Советской армии. В 1971 г. защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук “Исследование и выбор условий РФА элементов с малыми атомными номерами” под руководством одного из ведущих специалистов страны в области рентгеноспектрального анализа Н.Ф. Лосева. После защиты кандидатской диссертации А.Г. Ревенко работал в Институте прикладной физики при Иркутском госуниверситете (1971–1977), КФ ВНИКИ “Цветметавтоматика” (1977–1988). Начиная с 1988 г. и по настоящее время основным местом работы является Институт земной коры СО РАН, где он был заведующим лабораторией физических методов исследо-

вания (1988–1995), лабораторией физических и химических методов исследования (1995–1998), Аналитического центра (1998–2015). В 1995 г. А.Г. Ревенко защитил докторскую диссертацию “Рентгеноспектральный флуоресцентный анализ природных материалов”. Интересным фактом в трудовой деятельности А.Г. Ревенко является то, что, работая в разных организациях, он каждый раз участвовал в создании новой лаборатории, в которой впервые внедрялись рентгенофлуоресцентные спектрометры.

Основная научная деятельность А.Г. Ревенко связана с развитием метода РФА и его применением к разнообразным объектам. Ревенко А.Г. занимался исследованием фундаментальных проблем взаимодействия рентгеновского излучения с атомами элементов пробы, изучением спектрального состава рентгеновского фона в длинноволновой области спектра. Он основал новое научное направление – теоретическое моделирование матричных эффектов в РФА с целью оценки взаимных влияний элементов пробы и выбора оптимальных условий анализа. Им разработан ряд эффективных способов определения элементов, и на их основе предложены методики рентгеноспектрального анализа более 100 различных материалов. Под его руководством разработаны и внедрены в составе АСАК методики РФА руд и продуктов их обогащения на крупнейших предприятиях цветной металлургии Урала, Сибири, Дальнего Востока, Узбеки-

стана и Казахстана. С его участием разработан комплекс методик рентгенофлуоресцентного определения малых содержаний элементов в горных породах, почвах, отложениях, конкрециях, золе угля и растительных материалов.

А.Г. Ревенко автор и соавтор около 400 публикаций в журналах, материалах конференций и других изданиях, имеет 4 авторских свидетельства на изобретения. Важным направлением его научной деятельности является регулярное написание обзоров, отражающих широкий спектр приложений и вехи истории развития рентгенофлуоресцентного метода. Анатолий Григорьевич всегда готов поделиться своей коллекцией литературы, помочь молодым ученым и коллегам найти публикации по любой тематике, связанной с РФА. Он собирает, бережно хранит и публикует исторические факты, относящиеся к развитию рентгеновских методов анализа в России. Начав работать в 1960-х гг., когда рентгеноспектральный анализ активно развивался и внедрялся в научную и промышленную деятельность, А.Г. Ревенко тесно сотрудничал с известными рентгенофизиками докторами наук В.П. Афоным, Г.В. Павлинским, А.Н. Смагуновой, Т.Н. Гуничевой.

Помимо научно-исследовательской работы, А.Г. Ревенко активно занимался преподаватель-

ской деятельностью, читал лекции для студентов Иркутского государственного университета, Иркутского государственного университета путей сообщения, Монгольского национального университета и др., руководил выполнением дипломных работ выпускников различных вузов Иркутска. Под его руководством подготовлены и защищены шесть кандидатских диссертаций. А.Г. Ревенко является почетным профессором Монгольского национального университета.

В настоящее время А.Г. Ревенко — признанный эксперт в области РФА, которого часто приглашают оппонировать диссертации, член Научного совета РАН по аналитической химии, редколлегий журналов “Аналитика и контроль”, X-Ray Spectrometry. Деятельность А.Г. Ревенко высоко отмечена многочисленными наградами (значок “Отличник социалистического соревнования цветной металлургии СССР”, почетный знак СО РАН “Серебряная сигма”, заслуженный работник науки Монголии и др.), почетными грамотами РАН и СО РАН.

Редакция “Журнала аналитической химии”, коллеги и друзья желают Анатолию Григорьевичу здоровья и долголетия, продолжения плодотворной научной деятельности.

ЮБИЛЕЙ ВЛАДИСЛАВА ВЕНИАМИНОВИЧА МАЛАХОВА



20 октября 2024 г. 90 лет старейшему сибирскому аналитику, доктору химических наук, профессору Владиславу Вениаминовичу Малахову. Вся его долгая жизнь связана с аналитической химией. Свой путь в науку Владислав Вениаминович начал на химическом факультете Казахского государственного университета в Алма-Ате. После окончания университета он некоторое время трудился в центральной аналитической лаборатории Лениногорского полиметаллического комбината, но рутинная работа не привлекала молодого и энергичного человека. Отработав по распределению на производстве, он пришел ассистентом на кафедру химии редких элементов своей alma mater. Но судьба неожиданно распорядилась так, что он переехал в Новосибирск, где устроился на работу в Институт неорганической химии СО РАН. С тех пор его жизнь была связана с Новосибирским академгородком.

В 1966 г. академик Г.К. Боресков пригласил молодого кандидата наук заведовать аналитической лабораторией Института катализа СО РАН. Для становления лаборатории неумная энергия и задор молодого заведующего оказались очень кстати, и через некоторое время лаборатория стала важной точкой в институте. В.В. Малахов обладал даром предвидеть те задачи, которые могли возникнуть в будущем, и поэтому аналитика никогда не тормозила развитие науки о катализе в институте.

В конце 1970-х гг. Малаховым были заложены принципы стехиографического метода дифферен-

цирующего растворения (ДР), на основании которых в настоящее время можно проводить определение фазового состава твердых многоэлементных веществ и материалов. Без использования эталонов твердых фаз применение стехиографии позволяет обнаруживать и определять как известные, так и неизвестные кристаллические и аморфные фазы постоянного и переменного составов. В то же время лаборатория включилась в работы по экспрессному хроматографическому анализу, в результате чего именно здесь была разработана и приготовлена первая в мире поликапиллярная колонка для сверхбыстрых разделений.

Владислав Вениаминович в течение долгого времени являлся бессменным председателем Сибирского отделения Научного совета РАН по аналитической химии и, вне всякого сомнения, в этот период являлся лидером аналитического сообщества Сибири. По его инициативе вот уже много лет, с 1980 г., проводится региональная конференция “Аналитика Сибири”. И почти все эти годы он был председателем оргкомитета этой конференции, что, несомненно, способствовало ее неизменному успеху.

После ухода с должности заведующего лабораторией В.В. Малахов был главным научным сотрудником аналитической лаборатории и существенную часть своей научной работы посвятил поиску новых приложений метода дифференцирующего растворения. Много времени он провел со студентами, читая спецкурсы в Новосибирском государственном университете и других вузах Новоси-

бирска. В настоящее время В.В. Малахов находится на заслуженном отдыхе, но не расстается с наукой. Он активно работает, обобщая свой опыт в области дифференцирующего растворения, и результатом этой работы стали выход книги в 2018 г. [1] и обширной, охватывающей широкий круг проблем монографии в 2023 г. [2].

Друзья, коллеги и ученики, а также многие из тех, кто общался и общается с Владиславом Вениаминовичем на протяжении долгих лет, отмечают его профессионализм, глубокие знания, ясность ума, доброжелательность и безусловный дар общения. Мы желаем юбиляру долгих лет активной жизни, хорошего здоровья, а также успехов во всех его начинаниях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Малахов В.В.* Стехиография, или основные начала искусства обнаружения, идентификации и количественного определения химических соединений без использования их эталонов / Отв. ред. В.Н. Пармон. Новосибирск: Изд. СО РАН, 2018. 284 с.
2. *Малахов В.В., Васильева И.Г.* Стехиография. Эволюция твердофазных реакций. Новые принципы исследования, приготовления и характеристики функциональных материалов / Отв. ред. В.Н. Пармон. Новосибирск: Изд. СО РАН, 2023. 318 с.