_

_

Том 76, номер 5, 2021

ОБЗОРЫ

÷

Хромато-масс-спектрометрический анализ высокочистых летучих неорганических гидридов	
А. Ю. Созин, В. А. Крылов, О. Ю. Чернова, Т. Г. Сорочкина, А. П. Котков, Н. Д. Гришнова, А. И. Скосырев, Г. В. Пушкарев	387
ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ	
Концентрирование гидрофильных фосфорорганических веществ на сорбенте Hypercarb	
Е. Н. Гончарова, М. А. Статкус, Г. И. Цизин	399
Идентификация породы археологической древесины методом ИК-спектроскопии	
В. М. Пожидаев, Я. Э. Сергеева, С. Н. Малахов, Е. Б. Яцишина	408
Прямой атомно-эмиссионный метод определения серы в углеродных материалах с дуговым источником излучения	
Д. О. Антонов, Э. Г. Силькис, Б. К. Зуев	413
Хромато-масс-спектрометрическая идентификация катионных и анионных поверхностно-активных веществ при микроэкстракционно-флуориметрическом скрининге проб воды и пищевых продуктов	
В. Г. Амелин, З. А. Ч. Шаока, Д. С. Большаков	421
Новый подход к оценке безопасности чая, кофе, какао и растительных масел, основанный на быстром скрининге проб образцов на суммарное содержание в них всех F-, Cl-, Br-органических соединений	
И. А. Ревельский, М. Е. Чиварзин, М. А. Герасимов, А. В. Фролова, А. М. Долгоносов, А. В. Скальный, А. И. Ревельский, А. К. Буряк	433
Методика определения декскетопрофена трометамола в плазме крови человека и ее валидация	
А. П. Лакеев, Е. А. Яновская, О. С. Брюшинина, Ю. Г. Зюзькова, Г. А. Фрелих, Н. Ю. Абдрашитова, В. В. Удут	442
Статистическая оценка стандартного отклонения времени хроматографического удерживания в режиме программирования температуры капиллярной колонки	
В. И. Абдрахманов, С. А. Добротин, О. Н. Косырева, В. И. Логутов	454
Амперометрические тирозиназные биосенсоры, модифицированные наноматериалами различной природы, для определения диклофенака	
Р. М. Бейлинсон, А. А. Явишева, Э. П. Медянцева, Г. К. Будников	467
ХРОНИКА	
Конференция по хроматографии и капиллярному электрофорезу	475
Юбилей Б.Я. Спивакова	479

———— ОБЗОРЫ ——

УДК 547.245.04:543.544(043)

ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЫСОКОЧИСТЫХ ЛЕТУЧИХ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ГИДРИДОВ

© 2021 г. А. Ю. Созин^{*a*, *}, В. А. Крылов^{*b*}, О. Ю. Чернова^{*a*}, Т. Г. Сорочкина^{*a*}, А. П. Котков^{*c*}, Н. Д. Гришнова^{*c*}, А. И. Скосырев^{*c*}, Г. В. Пушкарев^{*c*}

^аИнститут химии высокочистых веществ им. Г.Г. Девятых Российской академии наук ул. Тропинина, 49, Нижний Новгород, 603950 Россия ^bНижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, химический факультет

просп. Гагарина, 23, Нижний Новгород, 603600 Россия

^сАО НПП "Салют"

ул. Ларина, 7, Нижний Новгород, 603950 Россия

*e-mail: Sozin@ihps-nnov.ru Поступила в редакцию 02.07.2020 г. После доработки 18.09.2020 г. Принята к публикации 18.09.2020 г.

Обзор посвящен рассмотрению возможностей метода хромато-масс-спектрометрии в анализе высокочистых летучих гидридов естественного и изотопно обогащенного состава. Обсуждены вопросы, связанные с техникой эксперимента, хроматографическим разделением, идентификацией и количественным определением примесей. Применение данного метода существенно расширило сведения о природе, числе и предельных возможностях определения примесей в летучих неорганических гидридах. Установленные примеси представлены соединениями различных классов. Среди них атмосферные газы, предельные, непредельные, ароматические углеводороды C_1-C_9 , хлор- и фторсодержащие углеводороды C_1-C_4 , гомологи гидридов, алкилпроизводные гидридов, силоксаны Si_2-Si_4 , фторсилоксаны, кислородсодержащие углеводороды, серосодержащие вещества, гидриды других элементов. В изотопно обогащенных гидридах кремния и германия хромато-масс-спектрометрия позволила установить присутствие примесей, являющихся их молекулярными изобарами. Применение хромато-масс-спектрометрии при анализе высокочистых неорганических гидридов позволяет достичь пределов обнаружения примесей $10^{-8}-10^{-5}$ мол. %.

Ключевые слова: гидриды, примеси, идентификация, масс-спектры, хромато-масс-спектрометрия, предел обнаружения.

DOI: 10.31857/S0044450221030129

Летучие неорганические гидриды – это один из классов соединений водорода. При обычных условиях они находятся в газообразном состоянии [1]. Летучие гидриды применяют при получении простых веществ, соединений в высокочистом состоянии и эпитаксиальных слоев полупроводников. В последнее время растет интерес к изотопно обогащенным гидридам – новым материалам, необходимым для развития передовых высокоточных технологий и фундаментальных научных знаний. Наиболее востребованными гидридами являются силан, герман, арсин, фосфин, сероводород. Изотопно обогащенные силан и герман рассматриваются и используются как предпочтительные материалы в технологиях создания квантового компьютера, спиновой наноэлектроники, радиационно-стойких детекторов ионизирующих излучений, детекторов для исследования двойного бета-распада ядер и поисков "темной" материи, *p*-*i*-*n*-сверхрешеток, для повышения теплопроводности элементов микросхем, в метрологии [2–12].

Фосфин и арсин высокой чистоты используются в качестве исходных материалов при получении фосфидов и арсенидов галлия и индия, для легирования полупроводников IV группы периодической системы, применяющихся в лазерной технике, оптоэлектронике и гелиоэнергетике, для производства сверхвысокочастотных приборов в микроэлектронике [13–15]. Сероводород применяется при получении высокочистого сульфида цинка и других серосодержащих оптических материалов [14, 16–19].

Применяемые в производстве высокотехнологичных функциональных материалов гидриды должны иметь высокую химическую и в ряде случаев изотопную чистоту. Согласно современным требованиям концентрации молекулярных лимитируемых примесей в них не должны превышать $10^{-7}-10^{-5}$ мол. %, а в некоторых случаях эти значения могут быть еще ниже [20].

Аттестацию гидридов обычно проводят по небольшому набору примесей, к которым относятся атмосферные газы, углеводороды С₁-С₄, гидриды других элементов [21-24]. Существующие методики их определения характеризуются пределами обнаружения ло 10^{-7} — 10^{-4} мол. %. При разработке новых материалов для фотоники, полупроводниковой техники возникает потребность в более чистых гидридах, охарактеризованных по существенно большему числу примесей и с меньшими пределами обнаружения. Осложняющим обстоятельством при анализе гидридов является использование новых прекурсоров в их синтезе (например, мышьяксодержащих веществ, получаемых из люизита [25], серы, извлекаемой из природных газообразных углеводородов [26, 27]). Примесный состав получаемых гидридов требует обстоятельного изучения, поскольку может отличаться от характерного для гидридов, полученных из традиционных прекурсоров. Для повышения степени чистоты гидридов при разработке и совершенствовании технологий их глубокой очистки важным является наиболее полный контроль присутствующих в них примесей.

Для определения молекулярных примесей в гидридах наибольшее применение получили методы газовой хроматографии, масс-спектрометрии и ИК-спектроскопии [28, 29]. Аналитические возможности этих методов различны. Использование газовой хроматографии позволяет достичь пределов обнаружения примесей 10⁻⁷-10⁻⁴ мол. % [28-30]. Масс-спектрометрия позволяет определять до 10⁻⁷% примесей в бинарных смесях. При анализе образцов, содержащих больший набор примесей, пределы их обнаружения могут повышаться до 10⁻⁴-10⁻³ мол. % [31, 32]. ИК-спектроскопия позволяет определять в гидридах вещества, имеющие ненулевое значение производной дипольного момента отдельной химической связи по координате на уровне до 10⁻⁷-10⁻³ мол. % [30, 33].

Перспективным методом анализа гидридов является хромато-масс-спектрометрия (XMC). К важнейшим достоинствам XMC относятся высокая чувствительность регистрации примесей, быстрая и надежная их идентификация, возможность одновременно определять примеси веществ различных классов с низким уровнем концентраций. Такой набор параметров недоступен для близкого по предельным возможностям газохроматографического метода, требующего для этой цели применения различных селективных детекторов.

Настоящий обзор посвящен рассмотрению возможностей и особенностей применения метода хромато-масс-спектрометрии для качественного и количественного анализа высокочистых летучих гидридов.

Дозирование гидридов в хромато-масс-спектрометр. Летучие гидриды и многие примеси в них обладают высокими реакционной активностью и токсичностью. Они могут взаимодействовать с материалом системы дозирования проб в аналитический прибор, что в свою очередь может приводить к появлению ложных примесей. Используемые материалы не должны обладать памятью к анализируемым гидридам и примесям в них, выражающейся в появлении фоновых сигналов и снижении аналитических характеристик метода. Они также не должны приводить к потере определяемых примесей. Причиной появления значительных систематических погрешностей при опрелелении примесей также может являться их поступление через прокладочные полимерные материалы [34-36]. Например, диффузия примесей из атмосферы через фторопластовые элементы может приводить к более чем стократному завышению результатов определения азота и кислорода на уровне 10⁻⁶-10⁻⁵ мол. % [34].

Для исключения этих факторов система дозирования в хромато-масс-спектрометр должна быть выполнена из газонепроницаемых химически и каталитически инертных материалов. Таким требованиям удовлетворяют молибденовое стекло, никель, монель, нержавеющая сталь. Они находят наибольшее применение в качестве конструкционных материалов для анализа гидридов [37, 38].

При анализе высокие требования предъявляются к чистоте газа-носителя. Присутствие в нем атмосферных газов, углеводородов, влаги может влиять на правильность определения как одноименных, так и других примесей, а также существенно завышать их пределы обнаружения. Присутствие в газе-носителе воды на уровне $n \times 10^{-4}$ мол. % и кислорода на уровне $n \times 10^{-3}$ мол. % приводит к занижению результатов определения взаимодействующих с ними веществ и повышению пределов их обнаружения [37]. Например, вода и кислород активно взаимодействуют с силаном с образованием его оксида и нормируемой примеси дисилоксана [39]. Чтобы исключить возможность химического взаимодействия гидридов, требуются глубокая осушка газа-носителя до уровня концентраций не выше 10⁻⁵-10⁻⁴ мол. % и удаление из него следов кислорода до уровня не выше $10^{-6} - 10^{-5}$ мол. %. В настоящее время некоторые марки промышленно выпускаемых технических газов, например Не 7.0, содержат не более 1×10^{-4} и 1×10^{-6} мол. % примесей воды и кислорода соответственно [40]. Это позволяет в ряде случаев исключить использование дополнительных систем очистки от примесей этих веществ и упростить схемы аналитического оборудования.



Рис. 1. Система дозирования гидридов в хромато-масс-спектрометр [41]. *1* – баллон (ампула) с образцом гидрида, *2* – баллон с промывочным газом (He "70"), *3* – баллон с газом-носителем (He "70"), *4* – баллон с продувочным газом крана-дозатора (He марки Б), *5*–*10* – вакуумные краны, *11* – приёмный баллон для гидрида, *12* – вакуумметр с классом точности 0.6, *13* – кран-дозатор Valco EH2C6WEZPH-CER5, *14* – блок регулирования расхода обдувочного газа крана-дозатора БПГ-38, *15* – криоловушка, *16*, *17* – сосуд Дьюара с жидким азотом, *18* – форвакуумный насос HBP-16Д, *19* – хромато-масс-спектрометр Agilent 6890/MSD 5973N.

На рис. 1 приведен пример схемы установки, используемой для низкофонового анализа гидридов [41]. Ее газовые коммуникации выполнены из нержавеющей стали – химически инертного материала. Дозирование пробы осуществляется автоматическим краном-дозатором, функционирующим в атмосфере защитного газа. Особенностью системы является то, что она замкнутая и вакуумируемая. Оставшиеся в системе напуска после дозирования гидриды конденсировали в приемные баллоны для дальнейшего использования. Таким образом, их расход на анализ ограничивался величиной дозируемого объема и давления и не превышал 2×10^{-4} г, что важно при анализе дорогостоящих изотопно обогащенных веществ. В работах [42, 43] реализованы эффективные системы дозирования, используемые при хромато-масс-спектрометрическом анализе высокочистого арсина и силана. Их газовые коммуникации и вентили также выполнены из нержавеющей стали. Использование подобных систем позволяет надежно определять примеси на уровне 10⁻⁸-10⁻⁵ мол. % [42-46].

Арсин, фосфин, герман и сероводород при хранении в баллонах в зависимости от их количества и температуры могут представлять собой двухфазные системы, состоящие из пара и жидкости [1]. Находящиеся в них примеси распределяются между фазами. В связи с этим важно, из какой фазы проводится отбор пробы. Пробоотбор из паровой фазы проводить удобнее, но если значение коэффициента распределения примесей велико, то, как показано в работах [47-50], величина систематической погрешности их определения может достигать сотен процентов. Погрешность может уменьшаться при пробоотборе из жидкости, но даже в случае умеренных значений коэффициентов распределения она может превышать 20%. Осложняющий фактор при анализе двухфазных систем - необходимость знать точное соотношение объемов газовой и жилкой фаз. что не всегда возможно. Погрешность, связанная с пробоотбором, может быть устранена переводом образца в однофазное состояние, в противном случае распределение примесей между фазами следует принимать во внимание при расчете их общих концентраций в баллоне [34, 47, 50].

Хроматографическое разделение примесей. В первых работах по ХМС-анализу гидридов для разделения веществ использовали насадочные хроматографические колонки. В работе [51] для анализа силана применили насадочную хромато-графическую колонку 13.72 м × 3.175 мм с сорбен-

том 28% DC 200 на Chromosorb PAW. Это позволило определять углеводороды C_1-C_2 , некоторые гидриды и алкилпроизводные силана. В работе [52] в силане для определения атмосферных газов и оксида углерода(II, IV) использовали колонку длиной 2 м с сорбентом Porapak Q.

С развитием капиллярной хроматографии возможности метода хромато-масс-спектрометрии для анализа гидридов существенно возросли. Этому способствовали следующие факторы [47, 53–55]:

1. Меньшая суммарная внутренняя поверхность капиллярных колонок, более высокая чистота их материала (SiO₂) и его химическая стойкость благоприятствовали высокочувствительному определению агрессивных веществ.

2. Появилась возможность достижения необходимого разрешения хроматографических пиков веществ благодаря большей эффективности капиллярных колонок.

3. Меньшая емкость колонок позволяла проводить анализ при более низких температурах, что снижало вероятность химических превращений с участием разделяемых веществ.

 Повысилась экспрессность разделения примесей.

5. Увеличилась воспроизводимость режима разделения из-за меньшей тепловой инерции капиллярных колонок.

6. Отсутствие пористого зернистого наполнителя колонок резко уменьшило размывание тыла хроматографической полосы вещества-основы и позволило заметно снизить пределы обнаружения примесей с более высокими температурами кипения.

Авторы работы [56] с использованием варианта газожидкостной хроматографии и капиллярной колонки SE-30 длиной 30 м с неподвижной фазой метилсиликоновым эластомером определили в фосфине и арсине новые примеси, имеющие достаточно высокие температуры кипения. Среди них углеводороды C_4-C_6 , бензол, толуол, ряд хлор- и кислородсодержащих углеводородов. Выполнено разделение примесей хлорсиланов, хлористого водорода, циклотетрасилоксана в силане на капиллярной колонке с фазой DB-1 (диметилполисилоксан) [57]. Для определения в германе его гомологов, в арсине германа и в фосфине сероводорода использовали колонку DB-1 100 м и 200 м \times 0.53 мм \times 5 мкм [58].

Примесный состав гидридов представлен в основном веществами с низкими температурами кипения (от –196°С для N₂) [59]. Использование WCOT-колонок во многих случаях не позволяет достичь приемлемого разрешения таких веществ. Для хроматографического разделения подобных примесей наиболее подходящим является вариант газоадсорбционной хроматографии [60]. Существенным аргументом в пользу выбора этого варианта хроматографирования гидридов является более высокая (до порядка и выше) эффективность разделения низкокипящих примесей. Например, в случае применения пленочных колонок DB-1 100 м и 200 м \times 0.53 мм \times 5 мкм эффективность хроматографического разделения примесей SiH₄, GeH₄, PH₃, H₂S, AsH₃ составляет 80-400 тт/м [58]. При использовании адсорбционной PLOT-колонки GS-GasPro 60 м × 0.32 мм с силикагелем в качестве сорбента их эффективность находится на уровне 1100-4000 тт/м [41, 44, 45], что позволяет реализовать более низкие пределы обнаружения примесей. Использование WCOT-колонок длиной 100, 200 м по сравнению с более короткими PLOT-колонками приводит к увеличению времени элюирования примесей и продолжительности анализа образцов, что в случае рутинных анализов не всегда приемлемо.

Появление капиллярных адсорбционных колонок позволило решить многие трудные задачи, связанные с хроматографическим разделением низкокипящих веществ. Возросли возможности определения в гидридах наиболее трудноудаляемых примесей (атмосферных газов, углеводородов C_1-C_3 , гидридов других элементов) [41, 42, 58, 61]. Использование данных колонок позволило также успешно определять и высококипящие вещества (углеводороды до C_{10} , ароматические углеводороды и др.) [42, 45, 46, 58].

Применение адсорбционных колонок GS-CarbonPLOT 25 м \times 0.32 мм \times 0.25 мкм с углеродным сорбентом, GS-GasPro 60 м × 0.32 мм с сорбентом политриметилсилилпропином (ПТМСП) 25 м × 0.26 мм, df = 0.25 мкм [62] позволило определить в сероводороде, фосфине, арсине, германе и силане естественного и изотопно обогащенного состава до 60 примесных веществ [41, 42, 44-46, 61, 63-67]. Использование колонки GS-Carbon-PLOT дает возможность надежно определять в германе трудноразделяемую с ним примесь этана [61], а применение колонки с ПТМСП позволило определить в силане примеси дисилана и дисилоксана [68]. Примеры хроматограмм германа и фосфина, полученных с использованием колонок GS-Gaspro и с ПТМСП приведены на рис. 2 и 3. Видно, что их применение позволяет разделять большое число низкокипящих и высококипящих веществ. Таким образом, для определения широкого класса примесей в гидридах использование капиллярных PLOT-колонок с различными сорбентами является наиболее перспективным.

Идентификация примесей. Информация о примесном составе гидридов складывается из данных масс-спектрометрического детектирования и параметров хроматографического разделения. В основе идентификации веществ, базирующейся на масс-спектрометрических данных, лежит сравне-



Рис. 2. Хроматограмма PH₃, обогащенного примесями с более высокими температурами кипения. Колонка GS-Gas-Pro 60 м × 0.32 мм [45]: $1 - N_2$, O_2 и Ar, $2 - AsH_3$, $3 - COS + C_2H_2$, $4 - C_3H_8$, $5 - H_2S$, $6 - Si_2H_6$, $7 - C_3H_6$, $8 - C_3H_4$ (пропадиен), $9 - u3o-C_4H_{10}$, $10 - u-C_4H_{10}$, $11 - CH_3Cl$, $12 - C_2H_3Cl$, $13 - CS_2$, $14 - C_4H_8$ (бутен-1), $15 - C_4H_8$ (*транс-бутен-2*), $16 - C_4H_8$ (*цис*-бутен-2), $17 - C_5H_{12}$ (2-метилбутан), $18 - C_4H_8$ (2-метилпропен-1), $19 - u-C_5H_{12}$, $20 - mpanc-1, 2-C_2H_2Cl_2$, $21 - CHCl_3$, $22 - 2-C_3H_7Cl$, $23 - C_2HCl_3$.



Рис. 3. Хроматограмма GeH₄. Колонка с сорбентом ПТМСП 25 м × 0.26 мм, df = 0.25 мкм [69]: $1 - C_3H_6$, $2 - C_3H_8$, $3 - CH_3GeH_3$, $4 - C_2H_5Cl$, $5 - GeH_3Cl$, $6 - u30 - C_4H_{10}$, $7 - CH_2Cl_2$, $8 - n - C_4H_{10}$, $9 - C_2H_5GeH_3$, $10 - CH_3C(0)OCH_3$, $11 - Ge_2H_6$, $12 - 1,1,2 - C_2F_3Cl_2H$, $13 - uuc - 1,2 - C_2H_2Cl_2$, $14 - 2 - C_3H_7(OCH_3)$, $15 - (C_2H_5)_2O$, $16 - CHCl_3$, $17 - n - C_5H_{12}$, $18 - 1,2 - C_2H_4Cl_2$, $19 - 1,1,2 - C_2F_3Cl_3$, $20 - CH_3C(0)OC_2H_5$, $21 - C_6H_6$, $22 - C_2HCl_3$, $23 - n - C_6H_{14}$, $24 - 1,1,2 - C_2H_3Cl_3$, $25 - C_2H_5Ge_2H_5$, $26 - C_6H_5CH_3$, $27 - Ge_3H_8$, $28 - C_2Cl_4$, $29 - u30 - C_7H_{16}$, $30 - C_7H_{16}$, 3 - metuлгekcaH, $31 - n - C_7H_{16}$, $32 - n - C_8H_{18}$, $33 - n - C_9H_{20}$.

ние экспериментальных масс-спектров электронной ионизации с библиотечными. В настоящее время наиболее востребованными являются электронные библиотеки NIST [70] и Wiley [71]. Масс-спектры некоторых гомологов, алкилпроизводных гидридов, алкилпроизводных гомологов гидридов, силоксанов, фторсилоксанов отсутствуют в этих источниках. Масс-спектры этих

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 5 2021



Рис. 4. Масс-спектр положительной химической ионизации (Si₂OFH₅). Молекулярный ион M = 96.

веществ с естественным и изотопно обогащенным составом приведены в работах [42, 45, 51, 59, 63-65, 67, 72-77]. При отсутствии литературных данных примеси можно идентифицировать на основе анализа их экспериментальных масс-спектров. В этом случае используют основные закономерности интерпретации масс-спектров и наиболее вероятные пути фрагментации предполагаемых ионов [78, 79]. Таким образом в силане, германе естественного и изотопно обогащенного состава, а также в арсине и фосфине идентифицированы примеси гомологов ($\Im_2 - \Im_5$), алкилпроизводных гидридов (алкил $- CH_3, C_2H_3, C_2H_5, C_3H_5, C_3H_7)$, силоксанов и фторсилоксанов (Si₂-Si₄) [42, 45, 46, 63-65, 67, 76, 77]. Для некоторых соединений при электронной ионизации пики молекулярных ионов могут отсутствовать или быть малоинтенсивными. В этом случае установление молекулярной массы и идентификация могут быть затруднительными. Информацию о массе молекулярного иона можно получить при химической ионизации с регистрацией положительно заряженных ионов [78-81]. На рис. 4, 5 приведены масс-спектры положительной химической (газ-реактант – CH₄) и электронной ионизации установленной в силане примеси Si₂OFH₅, масс-спектр которой отсутствует в известных базах данных [63]. Информация о молекулярной массе исследуемых веществ, полученная при интерпретации массспектра химической ионизации, и дальнейшее рассмотрение масс-спектра электронной ионизации

позволяют идентифицировать неизвестные соединения.

Важным параметром, использование которого может быть существенным дополнением для идентификации примесей, является их время удерживания в хроматографической колонке. Благодаря сравнению с известными параметрами удерживания определяемых веществ, во многих случаях удается повысить надежность идентификации примесей изомеров, масс-спектры которых могут быть похожими.

Важной особенностью метода является возможность идентификации веществ, имеющих близкие времена удерживания и очень низкое разрешение хроматографических пиков. В этом случае вычитают пики масс-спектра соседнего компонента из масс-спектра рассматриваемого вещества [42, 76].

Использование хромато-масс-спектрометрии, в отличие от наиболее часто применяемого для анализа гидридов метода газовой хроматографии, позволяет по масс-спектрам оценить изотопный состав примесей. Так, установлено, что в изотопно обогащенных силанах и германах примеси гомологов, алкилпроизводных этих гидридов, силоксанов обогащены теми же изотопами Si и Ge, что и основной компонент [63–65, 67, 76, 77]. В этих гидридах также были идентифицированы примеси со смещенным изотопным составом — Xe, CS₂, C₆H₆, C₃H₇Cl, SO₂F₂, CF₃Cl. Рассмотрение их масс-спектров и определение молекулярных масс позволило впервые доказать протека-



Рис. 5. Масс-спектр Si₂OFH₅ [63].

ние процесса накопления изобарных примесей при изотопном обогащении германа (в 72 GeH₄ – 12 C 32 S₂, C₄H₉F, в 73 GeH₄ – 12 C 32 S³³S, в 74 GeH₄ – 12 C $_{6}^{32}$ S₆H₆, 2-C₃H₇ 35 Cl, C $^{32-34}$ S₂) и примесей 32 SO₂F₂, CF_3 ³⁷Cl при изотопном обогащении ²⁸SiF₄, применяемого при синтезе ²⁸SiH₄. Для повышения надежности идентификации примесей со смещенным изотопным составом, масс-спектры которых отсутствуют в базах данных, перспективным является дополнительное использование газохроматографического метода с применением селективных детекторов. Например, применение в работе [77] пламенно-фотометрического детектора позволило подтвердить присутствие в германе примеси сероуглерода. Все работы по анализу гидридов методом ХМС выполнены с применением квадрупольных масс-анализаторов, имеющих низкое разрешение – Agilent 6890/5973N, Intersmat IGS 131/Riber AQX 156, Hewlett–Packard 5890/5970В [41, 51, 57]. Использование массспектрометрических детекторов высокого разрешения также может повысить возможности идентификации таких примесей и способствовать более надежному определению степени их изотопного обогащения.

Применение метода хромато-масс-спектрометрии для анализа гидридов естественного и изотопно обогащенного состава позволило идентифицировать более широкий круг примесей по сравнению с другими методами: атмосферные газы, предельные, непредельные, ароматические углеводороды С1-С9, хлор- и фторсодержащие углеводороды $C_1 - C_4$, гомологи гидридов $\Im_2 - \Im_5$, алкилпроизводные гидридов (алкил – СН₃, С₂Н₃, C_2H_5, C_3H_5, C_3H_7), алкилпроизводные гомологов гидридов (C₂H₅Ge₂H₅, CH₃Si₂H₅, CH₃As₂H₃, С₂Н₅Аs₂Н₃), силоксаны Si₂-Si₄, фторсилоксаны, кислородсодержащие углеводороды (ацетон $(CH_3)_2CO$, CH_3OH , этилацетат $C_4H_8O_2$, 2-C₃H₇(OCH₃), CH₃C(O)OC₂H₅, CH₃C(O)OCH₃, 1,4-диоксан $C_4H_8O_2$, $(C_{2}H_{5})_{2}O,$ 2-бутанон $2-C_4H_8O$), серосодержащие вещества (SO₂, COS, CH_3SH , CS_2 , тиофен C_4H_4S , 2-метилтиофен C_5H_6S , 3-метилтиофен C_5H_6S , 2-этилтиофен C₆H₈S, 3-этилтиофен C₆H₈S, SO₂F₂, (CH₃)₂S, изопропантиол изо-C₃H₈S, SF₆), гидриды других элементов. В H₂S этим методом идентифицировано 26 примесных веществ, в PH₃ - 58, в AsH₃ - 62, в GeH₄, ⁷²GeH₄, ⁷³GeH₄, ⁷⁴GeH₄, ⁷⁶GeH₄ – 57, B SiH₄, 28 SiH₄, 29 SiH₄, 30 SiH₄ - 71 [42, 44-46, 51, 56, 63].

Количественное определение. Для определения концентраций примесей в гидридах наиболее надежным является метод, основанный на использовании стандартных образцов, однако для гидридов они пока отсутствуют. Применение метода добавок предусматривает добавление веществ с известными концентрациями в пробы высокочистых гидридов, что может привести к их загрязнению другими примесями. Использование такого подхода требует дополнительного применения газосмесительного оборудования, что в случае ру-

Таблица 1. Примеси, установленные в сероводороде, фосфине, арсине, силане и германе с естественным и изотопно обогащенным составом с использованием метода хромато-масс-спектрометрии, и их пределы обнаружения (*c*_{мин})

Примесь	с _{мин} , мол. %
N ₂ , O ₂ , Ar, CO, CO ₂ , N ₂ O, Xe, Kr	$(0.003-1) \times 10^{-4} [43, 44, 46, 61, 66, 68, 69, 77]$
SiH_4 , H_2S , PH_3 , AsH_3 , GeH_4	$(0.2-5) \times 10^{-6} [46, 51, 58, 61, 65, 67, 69, 77, 90-92]$
GeH ₃ Cl	2×10^{-6} [46, 65, 67, 90]
Углеводороды C ₁ -C ₉	$(0.02-1) \times 10^{-5} [44, 46, 51, 61, 65, 67-69, 77, 90-92]$
Фтор- и хлорсодержащие углеводороды $C_1 - C_4$	$(0.2-4) \times 10^{-6} [46, 65, 67, 68, 90, 91]$
Алкилпроизводные гидридов и их гомологов	$(0.3-4) \times 10^{-6} [46, 51, 65, 68, 69, 90, 91]$
$\begin{array}{l} Si_{2}H_{6}O,Si_{3}H_{8}O_{2},\textit{u30-Si}_{4}O_{3}H_{10},\textit{H-Si}_{4}O_{3}H_{10},Si_{2}OH_{4}F_{2},Si_{2}OH_{5}F,\\ Si_{3}O_{2}H_{6}F_{2},Si_{3}O_{2}H_{7}F \end{array}$	$(2-20) \times 10^{-7} [46, 51, 68]$
Гомологи гидридов $\Im_2 - \Im_5$	$(2-50) \times 10^{-7} [46, 65, 67-69, 77, 90, 91]$
SO_2 , COS, CH ₃ SH, CS ₂ , C ₄ H ₄ S (тиофен), C ₅ H ₆ S (2-метилтио-	$(0.09-5) \times 10^{-6} [44, 46, 65, 67, 77, 91]$
фен), C_5H_6S (3-метилтиофен), C_6H_8S (2-этилтиофен), C_6H_8S (3-этилтиофен), SO_2F_2 , (CH ₃) ₂ S, <i>изо</i> - C_3H_8S (изопропантиол), SF ₆	
(CH ₃) ₂ CO (ацетон), CH ₃ OH, C ₄ H ₈ O ₂ (этилацетат),	$(1-6) \times 10^{-6} [46, 65, 67, 69, 90]$
$2-C_3H_7(OCH_3), CH_3C(O)OC_2H_5, CH_3C(O)OCH_3, (C_2H_5)_2O,$	
$C_4 \Pi_8 O_2 (1, 4 - диоксан), 2 - C_4 \Pi_8 O (2 - оутанон)$	1 10-4 [57]
люрсиланы, пСі	$1 \times 10^{-4} [5/]$

тинных анализов не всегда приемлемо. Метод абсолютной градуировки лишен таких недостатков и поэтому нашел наиболее широкое применение при хромато-масс-спектрометрическом анализе гидридов. Он основан на применении образцов сравнения, выпуск которых обеспечивает целый ряд фирм. В качестве основного компонента в этом случае обычно используют инертный газ.

Многие вещества, присутствующие в виде примесей в гидридах, недоступны в индивидуальном состоянии, поскольку методики их синтеза пока не разработаны. К таким вешествам, например, относятся гомологи гидридов, алкилпроизводные гидридов и их гомологов, силоксаны, фторированные силоксаны. Отсутствие этих веществ приводит к невозможности приготовления образцов сравнения и оценки их содержания в исследуемых образцах. Для определения концентраций этих веществ предложено использовать их полные сечения ионизации [68]. В этом случае применяют зависимость чувствительности детектирования от величин полного сечения ионизации веществ-примесей, которые приведены, например, в работах [82-84] или могут быть рассчитаны согласно рекомендациям [84-89]. Обоснованность такого расчета подтверждена корреляционными зависимостями. При этом погрешность определения коэффициентов чувствительности примесей составляет 25-35% [68].

Хромато-масс-спектрометрическое определение примесей в гидридах проводят с применением электронной ионизации [78, 79]. В табл. 1 приведены наиболее низкие достигнутые пределы обнаружения примесей в гидридах, полученные в режиме селективного ионного детектирования для массовых чисел с наибольшим соотношением сигнал/шум. Как видно, их значения находятся в интервале 9×10^{-8} — 1×10^{-4} мол. %. Во многих случаях они ниже, чем достигнутые с помощью методов ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии и газовой хроматографии [28—30].

На пределы обнаружения примесей существенное влияние может оказывать фон от основного компонента. В работах [65, 67, 77] показано, что предел обнаружения арсина, элюирующегося после матричного компонента германа, зависит от его изотопного состава. Это связано с наложением на пики масс-спектра арсина пиков германа с идентичными массовыми числами. Таким образом, в зависимости от изотопного состава анализируемого германа пределы обнаружения арсина составляют (2–20) × 10⁻⁶ мол. %.

Методом, позволяющим понизить пределы обнаружения электрофильных веществ, является химическая ионизация с регистрацией отрицательно заряженных ионов. Так, например, ее использование позволило снизить пределы обнаружения определяемых в гидридах примесей CHCl₃ и 1,1,2-C₂F₃Cl₃ до 9 × 10⁻⁸, C₂HCl₃ до 5 × 10⁻⁸, C₂Cl₄ и SF₆ до 1 × 10⁻⁸ мол. %. При анализе гидридов перспективно использование масс-спектромет-

рического детектирования с индуктивно связанной плазмой. Так, в работе [57] с применением этого метода достигнуты пределы обнаружения силана, фосфина, сероводорода на уровне (2–5) × × 10^{-7} мол. %, а германа и арсина на уровне (1–2) × × 10^{-9} мол. %.

* * *

Практика использования хромато-масс-спектрометрии при анализе высокочистых летучих гидридов естественного и изотопно обогащенного состава показала высокую информативность метода при определении молекулярных примесей, в том числе обладающих близкими к основе температурами кипения. Его применение позволяет оценить изотопный состав определяемых веществ. Использование хромато-масс-спектрометрии существенно расширило сведения о составе и содержании примесей в гидридах. В сероводороде установлено присутствие 26 примесных веществ, в фосфине – 58, в арсине – 62, в германах $(GeH_4, {}^{72}GeH_4, {}^{73}GeH_4, {}^{74}GeH_4, {}^{76}GeH_4) - 57$, в силанах $(SiH_4, {}^{28}SiH_4, {}^{29}SiH_4, {}^{30}SiH_4) - 71$. Эффективным при хромато-масс-спектрометрическом анализе гидридов является использование капиллярных колонок. Их применение в сочетании с известными вариантами масс-спектрометрического детектирования позволяет определять широкий круг примесных веществ с пределами обнаружения $10^{-8} - 10^{-5}$ мол. %.

Авторы выражают благодарность М.Ф. Чурбанову за полезное обсуждение материала, представленного в статье.

Работа выполнена в соответствии с Программой фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2019—2021 годы, № темы 0095-2019-0001.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. *Жигач А.Ф., Стасиневич Д.С.* Химия гидридов. Л.: Химия, 1969. 676 с.
- Чурбанов М.Ф., Гусев А.В., Буланов А.Д., Потапов А.М. Моноизотопные разновидности кремния и германия с высокой химической и изотопной чистотой // Изв. АН. Сер. хим. 2013. № 2. С. 275.
- 3. Инюшкин А.В. Теплопроводность изотопно модифицированного кремния: современное состояние исследований // Неорганические материалы. 2002. Т. 38. № 5. С. 527.
- Деточенко А.П., Денисов С.А., Дроздов М.Н., Машин А.И., Гавва В.А., Буланов А.Д., Нежданов А.В., Ежевский А.А., Степихова М.В., Чалков В.Ю., Трушин В.Н., Шенгуров Д.В., Шенгуров В.Г., Abrosimоv N.V., Riemann Н. Эпитаксиально выращенные моноизотопные слои Si, Ge и твердого раствора Si_{1 – x}Ge_x: получение и некоторые свойства // Фи-

зика и техника полупроводников. 2016. Т. 50. № 3. С. 350.

- Девятых Г.Г., Буланов А.Д., Гусев А.В., Ковалев И.Д., Крылов В.А., Потапов А.М., Сенников П.Г., Адамчик С.А., Гавва В.А., Котков А.П., Чурбанов М.Ф., Дианов Е.М., Калитеевский А.К., Годисов О.Н., Поль Х.-Й., Беккер П., Риман Х., Абросимов Н.В. Высокочистый монокристаллический моноизотопный кремний-28 для уточнения числа Авогадро // Доклады Академии наук. 2008. Т. 421. № 1. С. 61.
- Becker P., Friedrich H., Fujii K., Giardini W., Mana G., Picard A., Pohl H-J., Riemann H., Valkiers S. The Avogadro constant determination via enriched silicon-28 // Meas. Sci. Technol. 2009. V. 20. P. 1.
- 7. Осетров С.Б. Поиск частиц холодной темной материи с помощью германиевых детекторов: автореф. Дис. ... канд. физ-мат. наук. М.: Институт ядерных исследований РАН, 1998. 23 с.
- Gunter M., Hellmig J., Heusser G., Hirsch M., Klapdor-Kleingrothaus H.V., Maier B., Päs H., Petry F., Ramachers Y., Strecker U.V., Völlinger H.M., Balysh A., Belyaev S.T., Demehin A., Gurov A., Kondratenko I., Kotel'Nikov D., Lebedev V.I., Müller A. Heidelberg-Moscow β experiment with ⁷⁶Ge: Full setup with five detectors // Phys. Rev. 1997. V. 55. P. 54.
- Шубин А.Н., Гилев А.Н., Кононов Д.Б., Миськов А.А., Никитина Е.А., Скорынин Г.М., Барабанов И.Р., Безруков Л.Б., Денисов А.Н., Соболевский Н.М., Белоеуров С.Г., Корноухов В.Н., Альтман М., Кладвелл А. Новые требования к обогащенным изотопам для экспериментов по изучению безнейтринного двойного β-распада (эксперимент Герда) // Атомная энергия. 2006. Т. 101. № 2. С. 588.
- 10. Avignone F.T., Brodzinski R.L., Klimenko A.A. Results of the pilot experiment to search for inelastic interactions of WIMPS with ⁷³Ge // Ядерная Физика. 2000. Т. 63. №. 7. С. 1337.
- Klimenko A.A., Osetrov S.B., Smolnikov A.A., Tretyak V.I., Vasilyev S.I., Zdesenko Yu.G. Experimental limit on the charge non-conserving b decay of Ge-73 // Phys. Lett. B. 2002. V. 535. P. 77.
- Schoenert S. The GERmanium Detector Array (GER-DA) for the search of neutrinooless beta beta decays of Ge-76 at LNGS // Nucl. Phys. Proc. Suppl. 2005. V. 145. P. 242.
- Бузынин Ю.Н., Гусев С.А., Данильцев В.М., Дроздов М.Н., Дроздов Ю.Н., Мурель А.В., Хрыкин О.И., Шашкин В.И. Монокристаллические слои GaAs, AlGaAs и InGaAs, полученные методом газофазной эпитаксии их металлоорганических соединений арсенида галлия // Письма в ЖТФ. 2000. Т. 26. № 7. С. 64.
- Бланк Т.В., Гольдберг Ю.А. Полупроводниковые фотоэлектропреобразователи для ультрафиолетовой области спектра // Физика и техника полупроводников. 2003. Т. 37. № 9. С. 1025.
- Варганова В.С., Кравченко Н.В., Патрин В.М., Тришенков М.А., Хакуашев П.Е., Чинарева И.В. Особенности спектральной характеристики ультрафиолетовых GaP-фотодиодов на основе барьера Шоттки // Прикладная физика. 2015. № 1. С. 80.

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 5 2021

- Donadio R.N., Connolly J.F., Taylor R.L. New advances in chemical vapor deposited (CVD) infrared transmitting materials // Emerg. Opt. Mater. 1982. V. 297. P. 65.
- Караксина Э.В. Получение и свойства поликристаллического сульфида цинка для ИК оптики. Дис. ... докт. хим. наук. Н. Новгород: ИХВВ РАН, 2004. 283 с.
- Девятых Г.Г., Гаврищук Е.М., Иконников В.Б., Яшина Э.В., Дианов Е.М. Способ получения поликристаллического сульфида цинка. Патент № 2221906 РФ. Заявка 2002134807/15 от 25.12.2002, опубл. 20.01.2004.
- Гаврищук Е.М., Савин Д.В., Иконников В.Б., Сторожева Т.И. Получение сульфоселенидов цинка ZnS_xSe_{1 - x} CVD-методом // Прикладная физика. 2007. № 5. С. 102.
- Чурбанов М.Ф. Современные задачи химии высокочистых веществ / Тез. докл. XIII Всероссийской конференции "Высокочистые вещества и материалы. Получение, анализ, применение". Н. Новгород. 28–31 мая 2007 г. С. 3.
- Сайт фирмы Matheson TriGas: http://www.mathesongas.com/ (24.12.2019 г.).
- 22. Сайт фирмы Praxair: https://www.praxair.com/ (20.11.2019 г.).
- 23. Сайт фирмы ХОРСТ: http://horst.ru (20.11.2019 г.).
- 24. Сайт фирмы AZO MATERIALS: http://www.azom.com/ (20.11.2019 г.).
- 25. Турыгин В.В., Смирнов М.К., Березкин М.Ю., Сохадзе Л.А., Степнова Н.П., Томилов А.П., Федоров В.А., Потолоков Н.А. Физико-химические основы получения высокочистых соединений мышьяка из продуктов детоксикации люизита // Неорганические материалы. 2017. Т. 53. № 4. С. 392.
- 26. *Чурбанов М.Ф., Снопатин Г.Е., Созин А.Ю., Скрипачев И.В.* Молекулярный состав примесей органических веществ в особо чистой сере // Неорганические материалы. 2017. Т. 53. № 9. С. 989.
- Созин А.Ю., Чурбанов М.Ф., Чернова О.Ю., Сорочкина Т.Г., Скрипачев И.В., Снопатин Г.Е. Идентификация примесей в высокочистой сере с использованием метода хромато-масс-спектрометрии // Аналитика и контроль. 2017. Т. 21. № 3. С. 225.
- Крылов В.А. Анализ высокочистых летучих веществ // Журн. аналит. химии. 2002. Т. 57. № 8. С. 790.
- Крылов В.А. Проблемы анализа высокочистых летучих агрессивных веществ // Российский химический журн. 2002 Т. 44. № 4. С. 71.
- Чурбанов М.Ф., Карпов Ю.А., Зломанов П.В., Федоров В.А. Высокочистые вещества. М.: Научный мир, 2018. 994 с.
- Николаева Л.Г., Агафонов И.Л. Возможности определения примесей в летучих неорганических веществах особой чистоты методами масс-спектрометрии и газовой хроматографии / Получение и анализ веществ особой чистоты. М.: Наука, 1978. С. 168.
- 32. Зорин А.Д., Агафонов И.Л., Ларин Н.В., Кедяркин В.М., Фролов И.А., Балабанов В.В., Кузнецова Т.С. Анализ летучих неорганических гидридов на содержание микропримесей газо-хроматографическим и массспектрометрическим методами / Методы получе-

ния и анализа веществ особой чистоты. М.: Наука, 1970. С. 146.

- 33. Сенников П.Г., Кошелева И.А., Буланов А.Д., Адамчик С.А., Игнатов С.К. Изучение примесного состава изотопно-обогащенного германа методом ИК-Фурье спектроскопии высокого разрешения // Перспективные материалы. 2011. Специальный выпуск. № 10. С. 93.
- Krylov V.A. Pecularities of analysis of high-purity volatile aggressive compounds // GIT Labor. J. 1998. V. 2. № 2. P. 104.
- Krylov V.A., Kuss H.M. Modern aspects of analytical chemistry // Telgheder Aachen: Mainz. 1998. V. 48. P. 255.
- 36. Борейко Ю.И., Бусел А.М., Веселов А.И., Липавский В.Н., Павлушков Г.Г., Панина Л.И., Парфенкова Л.Р., Педченко В.Н., Рудич Е.И., Сакодынский К.И., Сахапов Г.З., Скибин А.И., Ухабин М.М., Шияпов Р.Т. Газовый хроматограф для анализа микропримесей влаги. Патент СССР. № 1099277. Заявка 3566112 от 04.03.1983, опубл. 23.06.1984.
- Иванова Н.Т., Франгулян Л.А. Газохроматографический анализ нестабильных и реакционно-способных соединений М.: Химия, 1979. 232 с.
- 38. Воротынцев В.М., Мочалов Г.М., Суворов С.С., Шишкин А.О. Газохроматографическое определение содержания примесей постоянных газов, метана, моно- и диоксида углерода в моногермане особой чистоты // Журн. аналит. химии. 2010. Т. 65. № 6. С. 648.
- 39. Белов Е.П. Моносилан в технологии полупроводниковых материалов. М.: НИИТЭХИМ, 1989. 37 с.
- 40. Сайт фирмы НИИ КМ: http://www.niikm.ru (12.02.2020 г.).
- 41. *Крылов В.А., Чернова О.Ю., Созин А.Ю*. Хроматомасс-спектрометрическая идентификация примесей в изотопно-обогащенном силане // Массспектрометрия. 2007. Т. 4. № 2. С. 125.
- Созин А.Ю., Чернова О.Ю., Сорочкина Т.Г., Котков А.П., Гришнова Н.Д., Полежаев Д.М., Пушкарёв Г.В., Буланова А.А. Идентификация примесей в высокочистом арсине методом хромато-массспектрометрии // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 5. С. 422.
- 43. *Morisaco I., Kato T., Ino Y., Schaefer K.* Trace gas detection in high purity gases for semiconductor fabrication with a new GC/MS system // Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys. 1983. V. 48. P. 19.
- 44. Крылов В.А., Чернова О.Ю., Созин А.Ю. Хроматомасс-спектрометрическое определение примесей в сероводороде высокой чистоты с применением газоадсорбционных капиллярных колонок // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66. № 6. С. 629.
- 45. Крылов В.А., Чернова О.Ю., Созин А.Ю., Котков А.П., Пушкарёв Г.В. Хромато-масс-спектрометрическая идентификация примесей в фосфине высокой чистоты // Аналитика и контроль. 2012. Т. 6. № 2. С. 196.
- 46. Созин А.Ю., Буланов А.Д., Чурбанов М.Ф., Чернова О.Ю., Сорочкина Т.Г., Нуштаева Л.Б. Примесный состав высокочистых изотопно-обогащенных моносилана и моногермана // Неорганические материалы. 2017. Т. 56. № 1. С 3.

- Крылов В.А. Газохроматографический анализ высокочистых летучих хлоридов. Дис. ... докт. хим. наук. Н. Новгород: ИХВВ РАН, 1991. 518 с.
- 48. Николаев А.Е., Крылов В.А. О систематической погрешности определения примесей при анализе жидких образцов // Журн. аналит. химии. 1981. Т. 36. № 11. С. 2120.
- 49. Чурбанов М.Ф., Ежелева А.Е., Снопатин Г.Е. О представительности пробы при анализе образцов гидридов, состоящих из газовой и жидкой фаз // Журн. аналит. химии. 1978. Т. 33. № 12. С. 2218.
- 50. Ермолаев С.В., Котков А.П., Гришнова Н.Д., Полежаев Д.М., Петухов Г.Г. Поведение примесей ацетилена и двуокиси углерода при получении высокочистого фосфина / Тез. докл. XIV Всероссийской конференции "Высокочистые вещества и материалы. Получение, анализ, применение". Н. Новгород. 30 мая–2 июня 2011 г. С. 168.
- de Saint Etienne C., Mettes J. Gas phase impurities in silane determined by gas chromatography – mass spectrometry // Analyst. 1989. V. 114. P. 1649.
- Morisaco I., Kato T., Ino Y., Schaefer K. Trace gas detection in high purity gases for semiconductor fabrication with a new GC/MS system // Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys. 1983. V. 48. P. 19.
- 53. Девятых Г.Г., Крылов В.А. Газохроматографический анализ высокочистых летучих неорганических веществ // Высокочистые вещества. 1987. № 3. С. 35.
- 54. Крылов В.А. Газохроматографический анализ высокочистых летучих агрессивных веществ // Российский химический журн. 2003. Т. 47. № 1. С. 55.
- 55. Хайвер К. Высокоэффективная газовая хроматография М.: Мир, 1993. 288 с.
- 56. Иванова Н.Т., Вислых Н.А., Воеводина В.В. Источник примесей при получении арсина и фосфина // Высокочистые вещества. 1990. № 5. С. 198.
- Cambria T., McManus J. Identification and removal of impurities in silane and dichlorsilane gas streams // Solid State Technology. 1990. V. 50. P. 95.
- 58. *Geiger W.M., Raynor M.W.* Trace analysis of specialty and electronic gases. New Jersey: John Wiley & Sons, 2013. 386 p.
- 59. Девятых Г.Г., Зорин А.Д. Летучие неорганические гидриды особой чистоты. М.: Наука, 1974. 206 с.
- 60. Яшин Я.И., Яшин Е.Я., Яшин А.Я. Газовая хроматография М.: ТрансЛит, 2009. 528 с.
- 61. *Крылов В.А., Чернова О.Ю., Созин А.Ю*. Высокочувствительное хромато-масс-спектрометрическое определение примесей в моногермане высокой чистоты с применением адсорбционной капиллярной колонки с углеродным сорбентом // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2016. Т. 82. № 2. С. 23.
- 62. Берёзкин В.Г., Королёв А.А., Хотимский В.С. Политриметилсилилпропин как адсорбент в капиллярной газовой хроматографии // Доклады Академии наук. 2000. Т. 370. № 2. С. 200.
- 63. Крылов В.А., Чернова О.Ю., Созин А.Ю. Хроматомасс-спектрометрическая идентификация примесей в силане природного изотопного состава и

обогащенном ²⁸Si // Аналитика и контроль. 2011. Т. 5. № 4. С. 421.

- 64. Созин А.Ю., Чернова О.Ю., Буланов А.Д. Исследование примесного состава силана, обогащенного изотопом ²⁹Si, методом хромато-масс-спектрометрии // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2016. № 9. Т. 82. С. 16.
- 65. Созин А.Ю., Чернова О.Ю., Сорочкина Т.Г., Буланов А.Д., Адамчик С.А., Нуштаева Л.Б. Примесный состав моноизотопного германа ⁷³GeH₄ высокой чистоты // Перспективные материалы. 2017. № 4. С. 65.
- 66. Созин А.Ю., Котков А.П., Гришнова Н.Д., Аношин О.С., Скосырев А.И., Архипцев Д.Ф., Чернова О.Ю., Сорочкина Т.Г. Хромато-масс-спектрометрическое исследование примесного состава высокочистого моносилана, полученного из силицида магния // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2018. Т. 84. № 5. С. 20.
- 67. Созин А.Ю., Чернова О.Ю., Сорочкина Т.Г., Буланов А.Д., Нуштаева Л.Б. Исследование примесного состава моноизотопного германа ⁷²GeH₄ высокой чистоты методом хромато-масс-спектрометрии // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2017. Т. 83. № 8. С. 15.
- 68. Крылов В.А., Созин А.Ю., Зорин В.А., Березкин В.Г., Крылов А.В. Хроматомасс-спектрометрическое определение примесей в изотопно-обогащенном силане высокой чистоты // Масс-спектрометрия. 2008. Т. 4. № 5. С. 281.
- 69. *Крылов В.А., Чернова О.Ю., Созин А.Ю*. Состав молекулярных примесей в высокочистом германе // Неорганические материалы. 2015. Т. 51. № 10. С. 1047.
- 70. Сайт организации NIST: https://webbook.nist.gov/chemistry/ (5.05.2019 г.).
- Сайт организации Willey: https://onlinelibrary.wiley.com (5.05.2019 г.).
- Агафонов И.Л., Девятых Г.Г. Масс-спектрометрический анализ газов и паров особой чистоты М.: Наука, 1980. 336 с.
- Cheng C.N., Foght D.D. Production of arsine and methylarsines in soil and in culture // Appl. Environ. Microbiol. 1979. V. 38. №. 3. P. 494.
- 74. Kösters J., Diaz-Bone R.A., Planer-Friedrich B., Rothweiler B., Hirner A.V. Identification of organic arsenic, tin, antimony and tellurium compounds in environmental samples by GC-MS // J. Mol. Struct. 2003. V. 661–662. P. 347.
- 75. *Pantsar-Kallio M., Korpela A.* Analysis of gaseous arsenic species and stability studies of arsine and trimethylarsine by gas chromatography-mass spectrometry // Anal. Chim. Acta. 2000. V. 410. P. 65.
- 76. Созин А.Ю., Чернова О.Ю., Сорочкина Т.Г., Буланов А.Д. Хромато-масс-спектрометрическое исследование примесного состава силана, обогащенного изотопом ³⁰Si // Перспективные материалы. 2016. № 12. С. 72.
- 77. Крылов В.А., Созин А.Ю., Буланов А.Д., Чернова О.Ю., Сорочкина Т.Г., Нуштаева Л.Б. Хромато-масс-спектрометрическое определение примесного состава германа высокой чистоты, обогащенного изото-

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 5 2021

пом ⁷⁴Ge // Аналитика и контроль. 2017. Т. 21. № 1. С. 25.

- Лебедев А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии М.: Бином. Лаборатория знаний, 2003. 493 с.
- 79. Заикин В.Г., Варламов А.В., Микая А.И., Простаков Н.С. Основы масс-спектрометрии органических соединений М.: МАИК Наука/Интерпериодика, 2001. 286 с.
- 80. *Карасек Ф., Клемент Р.* Введение в хромато-массспектрометрию М.: Мир, 1993. 237 с.
- 81. *Harrison A.G.* Chemical Ionization Mass Spectrometry. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 1992. 208 p.
- 82. Авакян С.В., Ильин Р.Н., Лавров В.М., Огурцов Г.Н. Сечения процессов ионизации и возбуждения УФ излучения при столкновениях электронов, ионов и фотонов с атомами и молекулами атмосферных газов. Справочник. Санкт-Петербург: ГОИ, 2000. 365 с.
- Beran J.A., Kevan L. Molecular electron ionization cross sections at 70 eV // J. Phys. Chem. 1959. V. 73. P. 3866.
- Lampe F.W., Franklin J.L., Field F.H. Cross sections for ionization by electrons // J. Am. Chem. Soc. 1957. V. 79. № 23. P. 6129.
- Fitch W.L. Calculation of relative electron impact total ionization cross sections for organic molecules // Anal. Chem. 1983. V. 55. P. 832.

- Сидоров Л.Н., Коробов М.В., Журавлева Л.В. Массспектральные термодинамические исследования. М.: Изд. Моск. университета, 1985. 208 с.
- Otwos J.W., Stevenson D.P. Cross-sections of molecules for ionization by electrons // J. Am. Chem. Soc. 1956. V. 78. № 3. P. 546.
- Pottie R.F. Cross sections for ionization by electrons. I Absolute ionization cross sections of Zn, Cd, and Te. II Comparation of theoretical with experimental values for atoms and molecules // J. Chem. Phys. 1966. V. 44. P. 916.
- Mann J.B. Ionization cross sections of the elements calculated from main-square radii of atomic orbitals // J. Chem. Phys. 1967. V. 46. № 5. P. 1646.
- 90. Крылов В.А., Чернова О.Ю., Созин А.Ю., Зорин А.Д. Хромато-масс-спектрометрический анализ германа высокой чистоты // Аналитика и контроль. 2015. Т. 19. № 1. С. 45.
- 91. Крылов В.А., Чернова О.Ю., Созин А.Ю., Котков А.П., Пушкарёв Г.В. Хромато-масс-спектрометрическое определение примесей в фосфине высокой чистоты с использованием капиллярных адсорбционных колонок // Аналитика и контроль. 2013. Т. 17. № 4. С. 452.
- 92. Крылов В.А., Чернова О.Ю., Созин А.Ю., Котков А.П. Хромато-масс-спектрометрический анализ арсина высокой чистоты // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2010. № 3. Т. 76. С. 13.

УДК 543

КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ ГИДРОФИЛЬНЫХ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА СОРБЕНТЕ НУРЕКСАКВ

© 2021 г. Е. Н. Гончарова^{*a*}, М. А. Статкус^{*a*}, Г. И. Цизин^{*a*}, *

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет Ленинские горы, 1, стр. 3, Москва, 119992 Россия

*e-mail: tsisin@analyt.chem.msu.ru Поступила в редакцию 14.12.2020 г. После доработки 21.12.2020 г. Принята к публикации 25.12.2020 г.

Исследована сорбция и десорбция ряда гидрофильных фосфорорганических веществ (алкилфосфоновых и О-алкилалкилфосфоновых кислот, глифосата, глифосата и аминометилфосфоновой кислоты) из водной среды при использовании пористого графитированного углерода (сорбента Hypersep Hypercarb). Показано, что указанные аналиты количественно извлекаются на миниколонках размером 30×2.1 мм при скорости пропускания раствора 0.5-0.75 мл/мин. Для эффективной десорбции алкилфосфоновых кислот предложено использовать 0.5%-ный водный раствор формиата аммония, О-алкилалкилфосфоновых кислот – субкритическую воду при 200°С, глифосата, глифосата и аминометилфосфоновой кислоты – 1%-ный раствор аммиака в 80%-ном метаноле. В этих условиях могут быть достигнуты высокие коэффициенты концентрирования аналитов (90–150).

Ключевые слова: сорбционное концентрирование, гидрофильные фосфорорганические вещества, пористый графитированный углерод Hypercarb.

DOI: 10.31857/S004445022105011X

Фосфорорганические соединения, как правило, токсичны, либо являются продуктами разложения высокотоксичных вешеств, поэтому необходима разработка простых, надежных и высокочувствительных методов их определения в объектах окружающей среды, пищевых продуктах, биомедицинских и других объектах. Так, например, алкилфосфоновые кислоты (АФК) и О-алкилалкилфосфоновые кислоты (О-ААФК) являются маркерами применения химического оружия [1], а глифосат (N-(фосфометил)глицин) и глюфосинат (аммоний DL-гомоаланин-4-ил-(метил)фосфинат) - неселективными гербицидами [2]. В разных странах установлены различные нормативы по предельно допустимым содержаниям (ПДК) глифосата в объектах окружающей среды и пищевых продуктах, диапазон составляет от 0.05 до 500 мг/кг. Так, в России ПДК глифосата в водах составляет 0.1 мг/дм³, а для пищевых продуктов эти значения установлены в диапазоне от 0.02 до 5 мг/кг в зависимости от вида продукции [3]. Для алкилалкилфосфоновых и алкилфосфоновых кислот нет установленных ПДК. Однако увеличение чувствительности разрабатываемых методов их определения обеспечивает возможность получения информации о событиях большей давности, касающихся применения химического оружия.

Предложены многочисленные способы определения большинства указанных аналитов с применением газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) с электронной и химической ионизацией; их достоинством являются высокая чувствительность и возможность идентификации аналитов по библиотекам масс-спектров [4]. Однако из-за нелетучести этих аналитов перед ГХанализом необходимо провести их дериватизацию, а при анализе водных образцов необходима замена растворителя на органический. Эти шаги отнимают много времени и могут быть источником погрешностей при количественном определении, например, за счет неколичественной дериватизации аналитов в присутствии сопутствующих веществ.

Альтернативным методом определения АФК, О-ААФК и перечисленных выше пестицидов является ВЭЖХ [5, 6], которую применяли для решения таких задач в обращенно-фазовом, ионном и HILIC вариантах [2, 4, 5]. Метод, как правило, не требует дериватизации аналитов и замены воды на органический растворитель, тем самым сводя к минимуму вероятность потери определяемых веществ перед анализом, и позволяет проводить анализ без длительной пробоподготовки. Из-за низкого поглощения аналитов в УФ-области и отсутствия способности к флуоресценции, их можно надежно детектировать только с использованием масс-спектрометрии (MC), одновременно проводя идентификацию по молекулярной массе. Детектирование по светорассеянию, кондуктометрическое, непрямое УФ и пламенно-фотометрическое детектирование также применяют, но эти методы не позволяют надежно идентифицировать аналиты, поэтому они подходят только для быстрого скрининга [6].

АФК и О-ААФК в водной среде являются умеренно сильными кислотами (р $K_a = 2.0-2.5$), что позволяет определять их методом ионной хроматографии. Ионохроматографическое определение предполагает проведение весьма трудоемкой процедуры пробоподготовки для уменьшения влияния сопутствующих ионов [7, 8].

Привлекательно использование обращеннофазовой хроматографии, однако небольшие высокополярные молекулы, такие как АФК, без дериватизации слабо удерживаются на неполярных сорбентах [9]. В связи с этим актуален поиск новых неполярных неподвижных фаз и подбор условий разделения аналитов, в первую очередь состава подвижных фаз, для анализа смесей указанных гидрофильных фосфорорганических соединений.

Высокочувствительное определение токсичных фосфорорганических веществ, а также их метаболитов в сложных по составу объектах, не может ограничиваться выбором условий разделения этих веществ. В общем случае требуется разработка процедур, обеспечивающих сброс матричных компонентов образцов, а также повышение чувствительности определения аналитов. Для этого используют хроматографические системы с двумя колонками. На небольшой первой колонке аналиты концентрируют, не обращая внимание на их разделение [10]. Соответственно и требования к сорбенту для концентрирования иные, чем для сорбента для разделения. Часто используют сорбент с более крупными частицами, чем хроматографический. Однако появляются дополнительные требования к макросоставу концентрата: его компоненты не должны мешать последующему разделению аналитов на второй (хроматографической) колонке.

В многочисленных работах продемонстрирована эффективность извлечения гидрофильных веществ из водных растворов на углеродных сорбентах, прежде всего на пористом графитированном углероде [11]. Отмечено, что универсальность применения пористого графитированного углерода (ПГУ) для разделения и концентрирования обусловлена проявлением как дисперсионных взаимодействий, так и эффектами полярного удерживания ионизированных и полярных аналитов, а плоская поверхность графитовых лент обеспечивает сорбентам такого типа дополнительную селективность при разделении структурно родственных соединений (например, изомеров).

Целью настоящей работы являлась разработка способов концентрирования указанных гидрофильных фосфорорганических веществ на пористом графитированном углеродном сорбенте для повышения чувствительности их определения.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Растворы и реагенты. Использовали деионизованную воду, которую получали на установке Millipore Simplicity (Millipore, США), удельное сопротивление воды составляло 18.2 МОм см. Применяли раствор муравьиной кислоты в воде (50% по массе) "for HPLC" (Sigma-Aldrich, США), формиат аммония (97%, Sigma-Aldrich), ацетат аммония с чистотой >98% (Roth, Германия), уксусную кислоту HPLC (Panreac, Испания), водный раствор аммиака (28–30% по массе), степень чистоты "for analysis" (Panreac, Испания), ацетонитрил Super Gradient (Panreac, Испания), метанол и изопропанол "HPLC gradient" (Panreac, Испания).

Исходные растворы метилфосфоновой кис- $(\mathbf{M}\mathbf{\Phi}\mathbf{K}),$ этилфосфоновой лоты кислоты (ЭФК), н-пропилфосфоновой кислоты (н-ПФК), изопропилфосфоновой кислоты (иПФК), этилметилфосфоновой кислоты (ЭМФК), изопропилметилфосфоновой кислоты (иПМФК), пинаколил и изобутилметилфосфоновой кислоты (иБМФК) концентрацией 1 мг/мл готовили растворением точных навесок этих вешеств (>99%), Epsilon Chimie, Франция) в ацетонитриле. Растворы гидрофильных пестицидов концентрацией 0.5 мг/мл готовили растворением точных навесок сухих стандартных образцов глифосата (99.5%, Sigma-Aldrich), аминометилфосфоновой кислоты (АмМФК) (99%, Sigma-Aldrich) и глюфосината аммония (97.9%, Sigma-Aldrich) в воде. Приготовленные растворы хранили в темноте при +4°С.

Сорбенты. Для концентрирования аналитов использовали стальные ВЭЖХ-колонки размером 30 × 2.1 мм с сорбентом Нурегsер Нурегсагь (пористый графитированный углерод), размер частиц 30 мкм, средний диаметр пор 25 нм, удельная поверхность 120 м²/г (Thermo Electron Corp., США). Сорбент помещали в корпус колонки в сухом виде, уплотняли механически. Колонки помещали в термостат жидкостного хроматографа.

Для разделения аналитов использовали хроматографические колонки с сорбентом Нурегсагь двух размеров 30×2.1 мм и 100×2.1 мм. Сорбент в обеих колонках одинаковый: Hypercarb (Thermo Scientific, США), размер частиц – 5 мкм, средний размер пор – 25 нм, удельная поверхность – $120 \text{ м}^2/\text{г}$.

Оборудование. Для определения аналитов использовали жидкостные хромато-масс-спектро-

Аналит	Q1/Q3*	Потенциал декластеризации*, В	Энергия соударений*, В	m/z
МФК	95/63, 95/79	-90	-60, -25	95
ЭФК	109/63, 109/79	-85	-60, -28	109
н-ПФК	123/63, 123/79	-100	-29, -65	123
иПФК	123/63, 123/79	-100	-29, -65	123
ЭМФК	123/95, 123/79, 123/63	-30	-16, -28, -65	123
иПМФК	137/95, 137/79, 137/63	-50	-19, -40, -75	137
иБМФК	151/63, 151/79, 151/95	-70	-67, -35, -19	151
ПиМФК	_	_	_	179
АмМФК	110/79, 110/63	-90	-24, -36	110
Глифосат	168/79, 168/63	-110	-26, -54	168
Глюфосинат	180/63, 180/95	-90	-66, -25	180

Таблица 1. Параметры регистрации ионов алкилфосфоновых и О-алкилалкилфосфоновых кислот, глифосата, глюфосината и аминометилфосфоновой кислоты масс-спектрометром

* Только для трехквадрупольного масс-спектрометра.

метры с одинарным (Shimadzu, Япония) и тройным квадруполем Agilent Technologies (США) и AB Sciex (Канада).

Хромато-масс-спектрометр Shimadzu состоял из следующих модулей: квадрупольный массспектрометр LCMS-2020 с ионизацией аналитов электрораспылением (ЭРИ), химической ионизацией при атмосферном давлении (ХИАД) и приставкой DUIS для одновременной ионизации в режимах ЭРИ и ХИАД; два ВЭЖХ-насоса LC-20; дегазатор DGU-20A; термостат CTO-20A; автосамплер SIL-20AC. Для детектирования аналитов использовали следующие параметры МСдетектора и интерфейса: время накопления сигнала на выбранной массе (SIM event time) -0.2 с; напряжение на детекторе (Detector Voltage) 1.1 кВ; напряжение на интерфейсе (Interface Voltage) $-\pm 4.5 \text{ kB}$; напряжение на линии десольватации (DL Voltage) - 0 B; температура интерфейса (Interface temperature) - 350°С; температура линии десольватации (DL temperature) – 250°C; поток газа-распылителя (Nebulizing gas flow) 1.5 л/мин; температура блока нагревателя (Heat Block) -400° C; поток газа-осушителя (Drying gas flow) – 15 л/мин; режим ионизации (Ionisation mode) – ЭРИ. Эти параметры не оптимизировали, использовали рекомендованные производителем оборудования значения.

Хромато-масс-спектрометр Agilent Technologies (США) и AB Sciex (Канада) состоял из следующих модулей: жидкостной насос Agilent 1290; автосамплер Agilent 1290; термостат Agilent 1290; трехквадрупольный масс-спектрометр AB SCIEX QTRAP 5500. Для детектирования аналитов с помощью хромато-масс-спектрометра использовали следующие параметры MC-детектора и интерфейса: время накопления сигнала на выбранной массе (SIM event time) – 0.1 с; напряжение на детекторе (Detector Voltage) – $1.7 \, \kappa B$; напряжение на интерфейсе (Interface Voltage) – $-4.5 \, \kappa B$; температура интерфейса (Interface temperature) – 500° С; давление газа-распылителя (GAS 1) – $45 \, pci$; давление газа завесы (CUR gas) – $20 \, pci$; давление газа завесы (CUR gas) – $20 \, pci$; давление газа в ячейке соударений (CAD gas) – $5 \, mTorr$; режим ионизации (Ionisation mode) – $\Im PH$. Эти параметры также не оптимизировали, использовали значения, рекомендованные производителем оборудования.

Параметры регистрации ионов аналитов представлены в табл. 1 — величины m/z и Q1/Q2, потенциал декластеризации (ПД), энергия соударений (ЭС). Отрицательный режим регистрации ионов выбирали, исходя из строения определяемых веществ. Для аналитов, содержащих подвижные протоны выбирали режим регистрации отрицательных ионов после электрораспыления.

Для концентрирования аналитов с использованием субкритической воды использовали самостоятельно собранный комплекс оборудования для проточного сорбционно-ВЭЖХ-анализа, состоящий из узлов серийно выпускаемого оборудования (Аквилон, Россия), а также печи (внутренние размеры $22 \times 25 \times 17$ см, объем 9 дм³) от газового хроматографа ЛХМ-80 (ЗАО "Хроматограф", Россия), в который нами был установлен трубчатый электронагреватель (ТЭН) мощностью 1800 Вт [12]. Использовали ограничитель давления P-455 (Upchurch Scientific, США), номинальное создаваемое противодавление 70 атм (при пропускании воды со скоростью 1.0 мл/мин при температуре 20°С).



Рис. 1. Кривые проскока алкилфосфоновых кислот. Колонка для концентрирования (30×2.1 мм) с сорбентом Hypersep Hypercarb для твердофазной экстракции (30 мкм). Концентрации аналитов: 0.1 мкг/мл. Скорость потока 0.5 мл/мин. Температура колонки 25° С. *m/z*: 95 – МФК (*1*), 109 – ЭФК (*2*), 123 – н-ПФК (*3*).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сорбция аналитов. Все выбранные гидрофильные аналиты хорошо извлекаются на углеродном сорбенте, что выгодно отличает его от большинства обращено-фазных сорбентов [11].

Сорбция алкилфосфоновых кислот. Через колонку с помощью жидкостного насоса пропускали раствор смеси АФК в воде с концентрацией каждого аналита 0.1 мкг/мл. Кривую "проскока" регистрировали с помощью масс-спектрометрического детектора: для этого подключали колонку

Таблица 2. Максимальные объемы (мл) пропускаемого раствора до проскока аналитов в зависимости от скорости потока

Augur	Скорость потока, мл/мин			
Аналит	0.25	0.50	0.75	1.00
МФК	23	27	26	_
ЭФК	25	27	26	_
н-ПФК	33	33	34	_
ЭМФК	_	85	75	60
иПМФК	_	85	75	60
иБМФК	_	94	83	65
АмМФК	_	28	23	22
Глюфосинат	_	75	60	60
Глифосат	_	>115	>172	>110

Условия хроматографирования: колонка для концентрирования (30 × 2.1 мм) с сорбентом Hypersep Hypercarb для твердофазной экстракции (30 мкм). Концентрации АФК 0.1 мкг/мл, О-АМФК и пестицидов 0.2 мкг/мл. Температура колонки 25°С.

с сорбентом напрямую к детектору. Типичная кривая проскока представлена на рис. 1.

Изучали влияние скорости потока на сорбцию в интервале от 0.25 до 0.75 мл/мин. В табл. 2 представлены максимальные объемы аналитов до проскока в зависимости от скорости потока. Для дальнейших исследований выбрана скорость 0.5 мл/мин. При этой скорости объем пробы до проскока составил 27 мл, время концентрирования соответственно 54 мин.

Сорбция О-алкилметилфосфоновых кислот. Через колонку пропускали раствор смеси О-АМФК в воде с концентрацией аналитов 0.2 мкг/мл. Кривые "проскока" были аналогичны полученным при концентрировании АФК. По величине удерживания аналиты можно расположить в ряд: ЭМФК < иПМФК< иБМФК, для последнего величина коэффициента емкости (*k*') превышала 218.

Скорость потока варьировали в интервале от 0.25 до 1 мл/мин. Как видно из приведенных результатов (табл. 2), максимальный объем до проскока достигается при минимальной скорости потока, что достаточно очевидно. Однако, в связи с тем, что объем до проскока при увеличении скорости пропускания раствора меняется плавно, для снижения продолжительности анализа выбрали скорость 0.75 мл/мин. В этих условиях объем пропускаемой пробы до начала проскока составил 75 мл.

Сорбция елифосата, аминометилфосфоновой кислоты и глюфосината. Концентрация аналитов в этом случае составляла 0.2 мкг/мл. Кривые проскока выглядели так же, как и при концентрировании остальных аналитов. Слабее всех удерживалась АмМФК, значительно лучше – глюфосинат. Сильнее всех – глифосат, величина *k*' превышала 277. Максимальный объема "до проскока" (28 мл) достигается при скорости пропускания раствора 0.5 мл/мин (табл. 2).

Выбор условий десорбции аналитов. Десорбция аналитов после концентрирования на углеродных сорбентах, в том числе на сорбенте Hypercarb, часто затруднена [11], поэтому мы уделили этой стадии повышенное внимание. Для десорбции выбранных аналитов мы изучили возможность применения водных растворов муравьиной кислоты, формиата аммония, метанола, ацетонитрила и аммиака как при комнатной температуре, так и в нагретом состоянии (в том числе при использовании субкритической воды).

Десорбция алкилфосфоновых кислот. Десорбцию аналитов изучали после их извлечения из 5 мл раствора; десорбирующий раствор также пропускали со скоростью 0.5 мл/мин, собирали аликвоты по 300–500 мкл, АФК определяли в каждой аликвоте методом ВЭЖХ–МС. После завершения десорбции колонку промывали 2 мл (4.8 объемов колонки) метанола и 4 мл (9.5 объемов колонки) воды со скоростью 0.2 мл/мин.

Десорбция растворами муравьиной кислоты. Ранее при изучении разделения АФК на сорбенте Hvpercarb показано, что при повышении концентрации муравьиной кислоты удерживание аналитов снижается [13, 14], однако при ее содержании 0.1% коэффициенты емкости еще достаточно велики ($k' \approx 5$). Поэтому в качестве десорбирующего раствора выбрали более сильный элюент – водный раствор с добавкой 0.5% муравьиной кислоты (рН 2.1). Результаты (рис. 2) показали меньшую эффективность десорбции этил- и н-пропилфосфоновых кислот по сравнению метилфосфоновой кислотой. Степень десорбции рассчитывали как отношение суммарного количества каждого аналита во всех аликвотах после десорбции к исходному сорбированному количеству. Она составила $94 \pm 3\%$ для МФК, $86 \pm 2\%$ для ЭФК и 89 \pm 1% для н-ПФК (n = 3, P = 0.95).

Десорбция субкритической водой. Исследована возможность десорбции АФК субкритической водой. Этот способ перспективен из-за возможности реализации предложенной ранее в нашей группе двухколоночной on-line схемы, когда охлажденный концентрат целиком подают в хроматографическую колонку для повторного концентрирования и последующего разделения [12]. С использованием предложенной ранее установки [12] после 10-минутного прогрева печи (до 150 или 200°С) через колонку с сорбированными АФК пропускали поток нагретой воды со скоростью 0.2 мл/мин, раствор после десорбции охлаждали в потоке и собирали аликвотами по 0.3-1.0 мл. В каждой аликвоте АФК определяли методом ВЭЖХ-МС.

Установлено, что АФК десорбируются субкритической водой, но хуже, чем водным раствором муравьиной кислоты при комнатной температуре (табл. 3). В основном это касается ЭФК. Причины такого поведения ЭФК до конца неясны, однако при использовании углеродных сорбентов часто наблюдается нарушение привычных для обращенно-фазовой ВЭЖХ закономерностей удерживания аналитов, например зависимостей времен удерживания от длины алкильного радикала в молекуле или от гидрофобности [11]. Повышение температуры субкритической воды до 200°С снижало также степень десорбшии н-ПФК. В конце каждого эксперимента через колонку пропускали 0.5%-ную муравьиную кислоту (рН 2.1) для удаления остатков АФК.

Несмотря на то, что субкритическая вода не обеспечивает количественную десорбцию всех АФК, потенциально возможна реализация двухколоночной on-line схемы с повторным концентрированием аналитов на хроматографической колонке [12] для высокочувствительного определения отдельных аналитов, например метилфосфоновой кислоты. Однако в настоящей работе такая задача не ставилась.



Рис. 2. Данные по десорбции алкилфосфоновых кислот водным раствором муравьиной кислоты. Столбцы черного цвета соответствуют МФК, белого – ЭФК, серого – н-ПФК. АФК сорбировали на Нурегsep Hypercarb из 5 мл раствора концентрацией 0.25 мкг/мл и десорбировали 0.5%-ной муравьиной кислотой (pH 2.1). Температура колонки 25°С. Скорость потока 0.5 мл/мин.

Десорбция формиатом аммония. Исследовали десорбцию аналитов 0.5%-ным водным раствором формиата аммония (рН 6.7) при комнатной температуре.

Результаты показали эффективную десорбцию всех аналитов раствором формиата аммония (рис. 3). Все пики десорбции АФК одинаково узкие и находятся в одной зоне объемов пропускаемых растворов. Установлено, что степень извлечения АФК в данных условиях 99 \pm 2% для МФК и ЭФКи 99 \pm 1% для н-ПФК (n = 3, P == 0.95), что говорит о количественной десорбции АФК.

При использовании формиата аммония АФК количественно десорбируется меньшим объемом (300 мкл), чем при использовании раствора мура-

Таблица 3. Степени извлечения (при сорбции и десорбции субкритической водой) алкилфосфоновых кислот (*n* = 3, *P* = 0.95)

Определяемое вещество	Температура десорбирующего раствора		
	150°C	200°C	
МФК	101 ± 2	100 ± 1	
ЭФК	65 ± 2	75 ± 1	
н-ПФК	103 ± 4	74 ± 1	

Условия: колонка для концентрирования (30 × 2.1 мм) с сорбентом Hypersep Hypercarb для твердофазной экстракции (30 мкм). Концентрации аналитов 0.5 мкг/мл. Температура колонки 25°С. Аналиты десорбировали субкритической водой.



Рис. 3. Данные по десорбции алкилфосфоновых кислот водным раствором формиата аммония. Столбцы черного цвета соответствуют МФК, белого – ЭФК, серого – н-ПФК. АФК сорбировали на Hypersep Hyрегсагb из 5 мл раствора концентрацией 0.5 мкг/мл и десорбировали 0.5%-ным раствором формиата аммония в воде. Температура колонки 25°С. Скорость потока 0.5 мл/мин.

вьиной кислоты (600 мкл), что позволяет увеличить коэффициенты концентрирования аналитов.

Установлено, что добавка формиата аммония к субкритической воде (в концентрациях менее 0.5%) не обеспечивает количественную десорбцию всех АФК. При дальнейшем увеличении концентрации формиата аммония применение субкритической воды становится нецелесообразным, так как аналиты десорбируются и при комнатной температуре.

Десорбция водно-органическими смесями. Использовали смеси вода—органический растворитель (метанол или ацетонитрил). В этих условиях степень десорбции АФК не превышала 60%, и для достижения этой величины требовался большой объем растворителя (3 мл).

Таким образом, после извлечения на сорбенте Нурегсар Нурегсагь АФК лучше всего десорбировать 0.5%-ным раствором формиата аммония, при этом объем зоны концентрата в потоке составил 300 мкл. В выбранных условиях может быть достигнут коэффициент концентрирования АФК 90 (исходя из максимального объема "до проскока").

Десорбция О-алкилметилфосфоновых кислот. Для изучения десорбции проводили аналогичные эксперименты: через колонку для концентрирования пропускали 5 мл раствора О-АМФК с концентрацией 0.1 мкг/мл при скорости потока 0.75 мл/мин. Затем пропускали десорбирующий раствор и анализировали его аликвоты.

<u>Десорбция растворами формиата аммония</u>. Поскольку для десорбции АФК наиболее эффективным оказался 0.5%-ный раствор формиата ам-



Рис. 4. Данные по десорбции алкилметилфосфоновых кислот водным раствором формиата аммония. Столбцы черного цвета соответствуют ЭМФК, белого – иПМФК, серого – иБМФК. Аналиты извлекали на сорбенте Hypersep Hypercarb из 5 мл раствора концентрацией 0.25 мкг/мл и десорбировали 0.5%ным раствором формиата аммония в воде. Температура колонки 25°С. Скорость потока 0.5 мл/мин.

мония, исследовали десорбцию О-АМФК таким же раствором. Полученные результаты (рис. 4) показали меньшую эффективность десорбции О-АМФК раствором формиата аммония по сравнению с АФК. Степень десорбции ЭМФК составила 97 \pm 3%, иПМФК 93 \pm 2% и иБМФК 31 \pm 1% (n = 3, P = 0.95). Увеличение концентрации формиата аммония не привело к существенному улучшению десорбции.

Десорбция субкритической водой. Изучали десорбцию О-АМФК субкритической водой при температурах 150-250°С. Полученные результаты (рис. 5) показали, что субкритическая вода при 150°С не является эффективным элюентом для этих аналитов. Изобутилфосфоновая кислота в этих условиях не десорбируется, а степень десорбции ЭМФК и иПМФК не превышала 50%. Увеличение температуры до 200°С позволило количественно десорбировать все три О-АМФК, однако изобутилфосфоновая кислота десорбируется большим объемом, чем остальные аналиты. Так, для количественной десорбции ЭМФК и иПМФК необходимый объем субкритической воды составляет 1 мл, а для иБМФК – 1.5 мл. Степень десорбции аналитов составила $99 \pm 2\%$ (n = 3, P = 0.95).

Увеличение температуры еще на 10°С приводит к появлению следов метилфосфоновой кислоты в анализируемых аликвотах, что говорит о гидролизе выбранных эфиров. При 250°С наблюдали полный гидролиз всех трех эфиров метилфосфоновой кислоты.



Рис. 5. Данные по десорбции О-алкилметилфосфоновых кислот субкритической водой. Столбцы черного цвета соответствуют ЭМФК, белого – иПМФК, серого – иБМФК. Аналиты сорбировали на Hypersep Hypercarb из 8 мл раствора концентрацией 0.1 мкг/мл и десорбировали субкритической водой при температуре 150°C (а), 200°C (б). Скорость потока 0.5 мл/мин.

Изучено влияние добавки формиата аммония (0.2–3.8%) в десорбирующий раствор (воду) в субкритических условиях. Колонку помещали в печь и нагревали до 190°С в течение 10 мин. Десорбирующий раствор пропускали со скоростью потока 0.5 мл/мин (рис. 6). Нагрев позволяет увеличить степень десорбции ЭМФК, иПМФК и иБМФК до 100%, при этом увеличение концентрации формиата аммония улучшало десорбцию аналитов. Однако объем раствора, необходимый для количественной десорбции достаточно велик – 2.2 мл.

Также изучали влияние скорости потока на десорбцию О-АМФК при 200°С. Снижение скорости потока до 0.25 мл/мин приводило к увеличению объема концентрата. При увеличении скорости до 0.75 мл/мин вода не успевала прогреваться в капиллярах и аналиты не десорбировались. Оптимальная скорость составила 0.5 мл/мин.

Десорбция водой с добавкой аммиака. Исследовали десорбцию О-АМФК водным раствором аммиака (0.1 М раствор аммиака, pH 11.1) при комнатной температуре. Установлено, что в этих условиях количественно десорбируется ЭМФК, степень десорбции остальных аналитов не превышала 90%. Увеличение концентрации аммиака не улучшает десорбцию, а при концентрации выше 0.15 М (pH 11.2) наблюдали гидролиз эфиров до метилфосфоновой кислоты.

<u>Десорбция водным раствором аммиака с добавкой формиата аммония.</u> Предпринята попытка десорбции О-АМФК водным раствором, содержащим одновременно и формиат аммония и аммиак. В этих условиях наблюдали количественную десорбцию всех трех аналитов $99 \pm 3\%$ (n = 3, P = 0.95), но для десорбции изобутилметилфосфоновой кислоты необходим объем не менее 2.5 мл. Снижение или увеличение концентраций аммиака и/или формиата аммония не привели к снижению необходимого объема десорбирующего раствора.



Рис. 6. Данные по десорбции О-алкилалкилфосфоновых кислот водным раствором формиата аммония при 190°С. Столбцы черного цвета соответствуют ЭМФК, белого – иПМФК, серого – иБМФК. Аналиты сорбировали из 5 мл раствора концентрацией 0.1 мкг/мл и десорбировали 0.5% водным раствором формиата аммония. Скорость потока 0.5 мл/мин, температура колонки 190°С.



Рис. 7. Данные по десорбции аминометилфосфоновой кислоты, глифосата и глюфосината раствором вода-метанол-аммиак. Столбцы черного цвета соответствуют АмМФК, белого – глифосату, серого – глюфосинату. Аналиты сорбировали из 5 мл раствора концентрацией 0.1 мкг/мл и десорбировали 0.5%-ным (а), 1.0%-ным (б) и 2.0%-ным (в) раствором аммиака в 80%-ном метаноле. Температура колонки 25°С. Скорость потока 0.5 мл/мин.

Десорбция водным раствором метанола. Поскольку выбранные аналиты более гидрофобны, чем АФК, то справедливо предположить, что их можно десорбировать классическими элюентами, применяемыми в обращенно-фазовой хроматографии, например водными растворами метанола.

Эксперименты показали, однако, что этот элюент неэффективен для десорбции О-АМФК. Наилучший результат достигнут при использовании 80% метанола, ЭМФК и иПМФК в таких условиях десорбируются количественно, но необходимый объем раствора для десорбции составил 2.5 мл. иБМФК десорбируется этим же объемом неколичественно. Снижение концентрации метанола приводит к ухудшению десорбции – снижению степеней извлечения и увеличению объема десорбирующего раствора. Увеличение концентрации метанола приводит не только к увеличению объема концентрата, но и к размыванию пиков аналитов на хроматограмме при ВЭЖХ– МС-определении.

Таким образом, О-АМФК предпочтительнее десорбировать субкритической водой при 200°С, особенно в расчете на повторную фокусировку в хроматографической колонке в проточном вариан-

те [12]. В off-line режиме максимально достигаемый коэффициент концентрирования О-АМФК составил 150 (исходя из объема "до проскока").

Десорбция глифосата, аминометилфосфоновой кислоты и глюфосината. Как и в случае с АФК и О-АМФК, исследовали десорбцию пестицидов растворами муравьиной кислоты, формиата аммония и субкритической водой. Однако десорбция этими растворами оказалась неэффективной. Поэтому попытались увеличить pH десорбирующих растворов добавлением аммиака.

<u>Десорбция водным раствором аммиака.</u> Показано, что АмМФК, глюфосинат и глифосат количественно десорбируются 0.1 М раствором аммиака, однако объем, необходимый для десорбции, достаточно велик (3 мл). Увеличение концентрации аммиака существенного не улучшает вид кривых десорбции. Снижение концентрации приводит к снижению степеней десорбции всех трех аналитов. Нагрев и/или добавка формиата аммония также снижает степени извлечения всех трех аналитов.

Десорбция раствором аммиака в смеси вода метанол. Поскольку выбранные нами пестициды менее гидрофильны, чем АФК, то для снижения объема десорбирующего раствора может быть эффективна добавка в элюент метанола. Исследовали десорбцию аналитов смесями вода—аммиак метанол (рис. 7). Содержание метанола в смеси составляло 80%.

Как видно из приведенных результатов, наиболее эффективна десорбция смесью с содержанием аммиака 1%. Объем, необходимый для десорбции – 2.1 мл. Степень десорбции всех аналитов составила 99 \pm 3% (n = 3, P = 0.95). При снижении концентрации аммиака увеличивается объем элюента, необходимый для количественной десорбции. И увеличение, и снижение концентрации аммиака, а также нагрев элюента приводит к снижению степени десорбции глифосата.

Также изучено влияние содержания метанола в десорбирующем растворе на степень десорбции аналитов (рис. 8). Уменьшение концентрации метанола в десорбируюшем растворе до 70% снижает степень десорбции глифосата до $79 \pm 4\%$, а увеличение до 90% - до $35 \pm 3\%$ (n = 3, P = 0.95), в то время как на десорбцию глюфосината и аминометилфосфоновой кислоты концентрация метанола влияла слабо.

С целью повышения эффективности десорбции аналитов (в первую очередь, для снижения объема, необходимого для десорбции) исследовали десорбцию и другими элюентами. Показано, что использование растворов муравьиной кислоты, формиата аммония при комнатной температуре и при нагреве до 200°С, а также субкритической воды, неэффективно, десорбция всех трех аналитов проходит неколичественно или не проходит совсем.



Рис. 8. Данные по десорбщии аминометилфосфоновой кислоты, глифосата и глюфосината раствором водаметанол—аммиак. Столбцы черного цвета соответствуют АмМФК, белого – глифосату, серого – глюфосинату. Аналиты концентрировали из 5 мл раствора концентрацией 0.1 мкг/мл и десорбировали 1%-ным раствором аммиака в смеси метанол—вода. Концентрация метанола 70% (а), 80% (б), 90% (в). Температура колонки 25°С. Скорость потока 0.5 мл/мин.

Таким образом, при десорбции пестицидов и аминометилфосфоновой кислоты следует использовать 1%-ный раствор аммиака в 80%-ном метаноле, максимальные коэффициенты концентрирования АмМФК, глюфосината и глифосата в этом случае составили 91 (исходя из объема "до проскока").

* * *

Таким образом, выбраны условия концентрирования (сорбции и десорбции) ряда гидрофильных фосфорорганических веществ из водной среды при использовании пористого графитированного углерода Нурегsер Нурегсагb. Показана возможность достижения высоких коэффициентов концентрирования (90–150). Следует отметить, что для решения большинства задач достаточно концентрировать аналиты в существенно меньшей степени, и время, необходимое для концентрирования, может быть снижено.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-03-00289).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. *Munro B., Talmage S.* The sources, fate, and toxicity of chemical warfare agent degradation products // Environm. Health Perspectives. 1999. V. 107. № 12. P. 933.

 - ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 5 2021

- IARC Monographs. Volume 112: Evaluation of Five Organophosphate Insecticides and Herbicides. 20 March 2015.
- 3. Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень) ГН 1.2.3111-13. Утверждены постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 21.10.2013. № 55.
- Riches Morton I., Read R.W., Black R.M. The trace analysis of alkyl alkylphosphonic acids in urine using gas chromatography—ion trap negative ion tandem mass spectrometry // J. Chromatogr. B. 2005. V. 816. P. 251.
- Байгильдиев Т.М., Родин И.А, Ставрианиди А.Н., Браун А.В., Ахмерова Д.И., Шпигун О.А., Рыбальченко И.В. Экспрессное определение низких содержаний метилфосфоновой кислоты методом ВЭЖХ-МС/МС // Заводск. лаборатория. 2016. Т. 82. С. 5.
- Desoubries C., Chapuis-Hugon F., Bossee A., Pichon V. Three-phase hollow fiber liquid-phase microextraction of organophosphorous nerve agent degradation products from complex samples // J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci. 2012. V. 900. P. 48.
- Vermillion W.D., Crenshaw M.D. In-line respeciation: An ion-exchange ion chromatographic method applied to the separation of degradation products of chemical warfare nerve agents in soil // J. Chromatogr. A. 1997. V. 770. № 1–2. P. 253.
- Piao H., Marx R.B., Schneider S., Irvine D.I., Staton J. Analysis of VX nerve agent hydrolysis products in wastewater effluents by ion chromatography with amperometric and conductivity detection // J. Chromatogr. A. 2005. V. 1089. № 1–2. P. 65.
- 9. Филиппов О.А., Тихомирова Т.И., Цизин Г.И., Золотов Ю.А. Динамическое концентрирование органических веществ на неполярных сорбентах // Журн. аналит. химии. 2003. Т. 58. № 5. С. 454.
- 10. Олиферова Л.А., Статкус М.А., Цизин Г.И., Ван Д., Золотов Ю.А. Проточные сорбционно-жидкостно-хроматографические методы анализа // Журн. аналит. химии. 2006. Т. 61. № 5. С. 454.
- 11. Гончарова Е.Н., Статкус М.А., Цизин Г.И., Золотов Ю.А. Пористый графитированный углерод для разделения и концентрирования гидрофильных веществ // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 4. С. 291.
- 12. Борисова Д.Р., Гончарова Е.Н., Статкус М.А., Цизин Г.И. Проточное сорбционно-ВЭЖХ определение моноэфиров фталевой кислоты, включающее десорбцию субкритической водой // Вестник МГУ. Серия 2. Химия. 2015. Т. 56. № 5. С. 42.
- 13. *Mercier J.P., Morin P., Dreux M., Tambute A.* Liquid chromatography analysis of phosphonic acids on porous graphitic carbon stationary phase with evaporative light-scattering and mass spectrometry detection // J. Chromatogr. A. 1999. V. 849. № 1. P. 197.
- 14. Гончарова Е.Н., Семенова И.П., Статкус М.А., Цизин Г.И. Градиентное ВЭЖХ разделение алкилфосфоновых кислот на пористом графитированном сорбенте HYPERCARB с использованием водного раствора муравьиной кислоты в качестве подвижной фазы // Вестник МГУ. Серия 2: Химия. 2017. Т. 58. № 6. С. 275.

УДК 543.544.43

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОРОДЫ АРХЕОЛОГИЧЕСКОЙ ДРЕВЕСИНЫ МЕТОДОМ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ

© 2021 г. В. М. Пожидаев^{а, *}, Я. Э. Сергеева^а, С. Н. Малахов^а, Е. Б. Яцишина^а

^аНациональный исследовательский центр "Курчатовский институт" пл. Академика Курчатова, 1, Москва, 123182 Россия *e-mail: pojidaev2006@yandex.ru

Поступила в редакцию 09.04.2020 г. После доработки 16.11.2020 г. Принята к публикации 02.12.2020 г.

Представлены результаты апробации предложенного ранее способа идентификации породы археологических древесных материалов методом ИК-спектроскопии однократного нарушенного полного внутреннего отражения. Показано, что для идентификации породы образцов археологической древесины наиболее перспективен диапазон 1270–1220 см⁻¹, в котором обнаружены две полосы разной интенсивности. В спектрах хвойной древесины более интенсивная полоса расположена около 1265 см⁻¹, а в спектрах лиственных пород – около 1230 см⁻¹.

Ключевые слова: ИК-спектроскопия, нарушенное полное внутреннее отражение (НПВО), породы древесины, идентификация, археологические материалы. **DOI:** 10.31857/S0044450221050157

Древесные останки являются частыми находками при археологических раскопках. Определение породы археологических древесных материалов позволит провести достоверную атрибуцию музейных экспонатов и обеспечить современный

уровень хранения и реставрации.

Остатки древних предметов обычно имеют небольшие размеры и представляют большую историческую ценность, что делает предпочтительным использование неразрушающих методов анализа. Одним из таких методов является ИК-Фурье спектроскопия. Основные преимущества этого метода: небольшое количество исследуемого образца, необходимое для записи спектра, отсутствие пробоподготовки и экспрессность [1–5].

ИК-Фурье спектроскопия используется для исследования структуры и природы древесины, качественного и количественного анализа благодаря возможности получения информации о функциональных группах и других специфических структурных особенностях [6–15]. Большой вклад в изучение ИК-спектров современной древесины и ее основных компонентов был сделан коллективом авторов под руководством Карклинь В.Б. [16–21], которые отметили характерные особенности в спектрах поглощения разных пород современной древесины. Сведения об использовании ИК-спектроскопии для идентификации породы археологической древесины на данный момент весьма ограничены [11, 22]. Для более широкого применения ИК-Фурье спектроскопии при идентификации породы древней древесины ранее нами были исследованы около 130 образцов древесины хвойных и лиственных пород деревьев средней полосы России и установлены основные спектральные различия [23].

Цель настоящего исследования — апробация предложенного нами метода для идентификации породы археологических древесных материалов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Образцы археологической древесины были предоставлены Институтом Археологии РАН, там же проведена предварительная идентификация породы древесины методом оптической микроскопии. Описание образцов приведено в табл. 1. Размер исследованных образцов археологической древесины составлял 1–2 мм.

Аппаратура и вспомогательное оборудование. ИК-спектры записывали при помощи ИК-Фурье спектрометра Nicolet iS5 (Thermo Fisher Scientific, США) с использованием приставки нарушенного полного внутреннего отражения iD5 ATR (кристалл – алмаз). Спектральный диапазон 4000– 550 см⁻¹, спектральное разрешение 4 см⁻¹, число сканов – 32. Регистрацию и обработку спектров проводили с использованием штатного программного обеспечения прибора (Omnic 8.2).

№ образца	Описание образцов		Возраст
1	Лала мостовой, ПРАЭ-2018*, пл. 5, кв. 73	Дуб	16-17 век
2	Лала мостовой, ПРАЭ-2018, пл. 5, кв. 83	Дуб	16—17 век
3	Лала мостовой, ПРАЭ-2018, пл. 5, кв. 85	Дуб	16—17 век
4	Юго-восточная стена сооружения №6 ПРАЭ-2018, пл. 5, кв. 76	Сосна	16—17 век
5	Северо-восточная стена сооружения №6 ПРАЭ-2018, пл. 5, кв. 70	Сосна	16-17 век
6	Плаха мостовой, ПРАЭ-2018, пл. 5, кв. 87	Ясень	16—17 век
7	Плаха мостовой ПРАЭ-2018, пл. 4, кв. 85	Береза	16—17 век
8	Плаха мостовой ПРАЭ-2018, пл. 5, кв. 73	Ива	16-17 век
9	Доска от гроба ПРАЭ-2018, пл. 5, кв. 73	Дуб	16—17 век
10	Церковь Ильи Пророка в Цыпинском погосте (восточный переруб алтаря)	Сосна	17 век
11	Церковь Ильи Пророка в Цыпинском погосте (восточная стена южной клети галереи)	Сосна	17 век
12	Новгород 1959 г., Неревский раскоп (плаха мостовой на улице Великой)	Сосна	14—15 век
13	Новгород 1959 г., Неревский раскоп (плаха мостовой на улице Козьмодемьянской)	Сосна	13—14 век
14	Новгород 1970 г., Михайловский раскоп (плаха мостовой)	Сосна	12—13 век

Таблица 1. Описание образцов археологической древесины

* ПРАЭ-2018 – Переяславль-Рязанская археологическая экспедиция ИА РАН, 2018 г.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе ИК-спектров основное внимание уделяли исследованию поглощения древесины в пяти характеристичных областях, которые были предложены нами ранее для идентификации породы: 1665–1593, 1515–1505, 1270–1220, 875–830 и 815–805 см⁻¹ [1].

Ранее нами отмечено [1], что в спектрах образцов современных хвойных пород в области 1665— 1593 см⁻¹ присутствуют три полосы средней интенсивности: около 1652, 1637 и 1600 см⁻¹. В спектрах лиственных пород в этой области имеются две полосы средней интенсивности: около 1644 и 1594 см⁻¹. В области 1515—1505 см⁻¹ в спектрах современной хвойной древесины появляется поло-

№ образца*	Порода превесины	O	бласть поглощения, см	-1		
	Порода древесниы	1515-1504	1270-1220	815-805		
1	Дуб	1506	1268<1225	_		
2	Дуб	1504	1266<1225	—		
3	Дуб	1505	1268<1227	_		
4	Сосна	1508	1268>1231	811		
5	Сосна	1509	1267>1230	810		
6	Ясень	1506	1267<1221	—		
7	Береза	1504	1266<1222	_		
8	Ива	1506	1268<1225	—		
9	Дуб	1504	1266<1225	—		
10	Сосна	1508	1267>1230	810		
11	Сосна	1509	1266>1231	810		
12	Сосна	1509	1266>1222	810		
13	Сосна	1509	1265>1231	809		
14	Сосна	1508	1265>1231	809		
15	Хвойная	1508	1268>1233	811		

Таблица 2. Результаты спектрального исследования археологической древесины

* Обозначение образцов приведено в соответствии с табл. 1.



Рис. 1. ИК-спектры древесины: (а) – лиственная порода (образец № 1); (б) – хвойная порода (образец № 4).

са поглощения ~1509 см⁻¹. В спектрах лиственной древесины имеется полоса поглощения ~1505 см⁻¹. В спектрах современной древесины хвойных пород в области 1270-1220 см⁻¹ присутствуют две полосы средней интенсивности: более интенсивная в области ~1265 см⁻¹ и примерно вдвое менее интенсивная в области ~1230 см⁻¹. В спектрах лиственных пород в этой области спектра также имеются две полосы средней интенсивности. Соотношение интенсивностей максимумов поглощения для древесины лиственных пород обратное: интенсивная полоса ~1230 см⁻¹ и примерно вдвое менее интенсивная ~1265 см⁻¹. В области 900-830 см⁻¹ ИК-спектра современных хвойных пород имеются достаточно хорошо выраженные две полосы слабой интенсивности: около 896 и 872 см^{-1} . При этом интенсивность полосы 896 см^{-1} ,

как правило, больше, чем полосы 872 см⁻¹. В спектрах лиственных пород в этой области спектра также имеются две полосы слабой интенсивности: около 897 и 830 см⁻¹. Интенсивность полосы при 897 см⁻¹ больше, чем полосы при 830 см⁻¹. В спектрах хвойных пород в области 815–805 см⁻¹ имеется полоса слабой интенсивности около 808 см⁻¹. В спектрах лиственных пород в этой области полоса поглощения отсутствует. Основные результаты спектрального исследования археологической древесины приведены в табл. 2.

Достоверность идентификации породы археологической древесины по предложенным критериям в областях 1665—1593 и 875—830 см⁻¹ оказалась недостаточной.

Исследования образцов древесины в трех других областях ИК-спектра: 1515–1505, 1270–1220,

и 815-805 см⁻¹ (табл. 2) показали хорошую воспроизводимость результатов и пригодность для идентификации породы археологической древесины. Во всех спектрах археологической древесины хвойных пород присутствовала полоса слабой интенсивности 811-809 см⁻¹, а в спектрах лиственных пород в этой области полоса поглощения отсутствовала. В ИК-спектрах хвойной археологической древесины в области 1515-1505 см⁻¹ присутствовала полоса поглощения 1509-1508 см⁻¹. В спектрах лиственной древесины обнаруживается полоса поглошения 1506–1504 см⁻¹. Наиболее перспективной для идентификации породы образцов археологической древесины представляется область 1270-1220 см⁻¹, в которой имеются две полосы средней интенсивности. При этом в хвойной древесине полоса поглощения в области 1270-1265 см⁻¹ более интенсивная, а полоса в области 1235-1220 см⁻¹ примерно вдвое меньшей интенсивности. В спектрах лиственных пород в этой области спектра соотношение интенсивностей полос обратное: более интенсивная полоса 1235-1220 см⁻¹ и примерно вдвое менее интенсивная 1270—1265 см⁻¹.

Составной частью древесины является лигнин. Мономерными звеньями лигнина являются фенилпропановые структурные единицы (ФПЕ), которые подразделяются на три вида: *n*-гидроксифенилпропановые (Н), гваяцилпропановые (G) и сирингилпропановые (S). Лигнин хвойных пород в основном состоит из гваяцилпропановых структурных единиц. В лиственной древесине преобладают сирингилпропановые структурные единицы. Эти различия в структуре лигнинов хвойных и лиственных пород древесины определяют характерные различия в ИК-спектрах.

Так, в спектрах хвойной древесины обнаружена полоса поглощения около 1509 см⁻¹ (скелетные колебания С–С-связей ароматического гваяцильного кольца). В спектрах лиственной древесины — полоса поглощения около 1505 см⁻¹ (скелетные колебания С–С-связей ароматического сирингильного кольца).

В спектрах древесины в области $1270-1220 \text{ см}^{-1}$ присутствуют две полосы около 1265 см^{-1} (скелетные колебания гваяцильного кольца) и около 1230 см^{-1} (скелетные колебания сирингильного кольца), поэтому в ИК-спектре хвойной древесины более интенсивная полоса 1265 см^{-1} , а в спектрах лиственных пород более интенсивная полоса 1230 см^{-1} .

Примеры спектров образцов археологической древесины хвойной и лиственной пород представлены на рис. 1. Различие в спектрах поглощения образцов археологической древесины хвойной и лиственной пород в области 1270—1220 см⁻¹ представлены на рис. 2. Как видно из приведенных



Рис. 2. Область 1500–1200 см⁻¹ ИК-спектров древесины: (а) – лиственные породы; (б) – хвойные породы. Обозначение образцов приведено в соответствии с данными табл. 1.

примеров, использование спектра поглощения в этой области представляется наиболее перспективным для идентификации породы археологической древесины.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 17-29-04100 офи-м.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. *Faix O., Bottcher J.H.* The influence of particle size and concentration in transmission and diffuse reflectance spectroscopy of wood // Holz. Roh. Werkst. 1992. V. 50. P. 221.
- Popescu C.M., Popescu M.C., Singurel G., Vasile C., Argyropoulos D.S., Willfor S. Spectral characterization of eucalyptus wood // Appl. Spectrosc. 2007. V. 61. P. 1168.
- Banks W.B., Owen N.L. FTIR studies of hydrophobic layers on wood // Spectrochim. Acta A. 1987. V. 43. P. 1527.
- Moore A.K., Owen N.L. Infrared spectroscopic studies of solid wood // Appl. Spectrosc. Rev. 2001. V. 36. P. 65.
- 5. *Higuchi T.* Biochemistry and Molecular Biology of Wood. Berlin: Springer-Verlag, 1997. 362 p.
- 6. Хвиюзов С.С., Боголицын К.Г., Гусакова М.А., Зубов И.Н. Оценка содержания лигнина в древесине методом ИК-Фурье спектроскопии // Фундаментальные исследования. 2015. № 9 (часть 1). С. 87.
- 7. Пустынная М.А., Гусакова М.А., Боголицын К.Г. Региональные и возрастные изменения химического состава лигноуглеводной матрицы лиственной древесины (на примере осины Populus tremula) // Лесной журн. 2015. № 1. С. 133.
- 8. *Хабаров Ю.Г., Песьякова Л.А.* Аналитическая химия лигнина. Архангельск: АГТУ, 2008. 172 с.
- Derkacheva O., Sukhov D. Investigation of lignins by FTIR spectroscopy // Macromol. Symp. 2008. V. 265. P. 61.
- 10. *Lin S.Y., Dence C.W.* Methods in Lignin Chemistry. Berlin: Springer-Verlag, 1992. 578 p.
- 11. *Monnier G., Frahm E., Luo B., Missal K.* Developing FTIR microspectroscopy for analysis of plant residues on stone tools // J. Arch. Sci. 2017. V. 78. P. 158.
- Bodirlau R., Teaca C.A. Fourier transforminfrared spectroscopy and thermal analysis of lignocelluloses fillers treated with organic anhydrides // Rom. J. Phys. 2009. V. 54. P. 93.
- Chen H., Ferrari C., Angiuli M., Yao J., Raspi C., Bramanti E. Qualitative and quantitative analysis of wood samples by Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate analysis // Carbohydr. Polym. 2010. V. 82. P. 772.

- Esteves B., Marques A.V., Domingos I., Pereira H. Chemical changes of heat treated pine and eucalypt wood monitored by FTIR // Maderas. Cienc. Tecnol. 2013. V. 15. P. 245.
- Popescu C.M., Popescu M.C., Singurel G., Vasile C. Structural changes in biodegraded lime wood // Carbohydr. Polym. 2010. V. 79. P. 362.
- 16. Карклинь В.Б., Трейманис А.П., Громов В.С. ИКспектроскопия древесины и ее основных компонентов // Химия древесины. 1975. № 2. С. 45.
- Карклинь В.Б., Якобсон М.К., Столдере И.А. ИКспектроскопия древесины и ее основных компонентов // Химия древесины. 1975. № 3. С. 100.
- Карклинь В.Б., Охерина Е.Э. ИК-спектроскопия древесины и ее основных компонентов // Химия древесины. 1975. № 4. С. 49.
- Карклинь В.Б., Эйдус Я.А., Крейцбере З.Н. ИК-спектроскопия древесины и ее основных компонентов // Химия древесины. 1977. № 4. С. 86.
- Карклинь В.Д. ИК-спектроскопия древесины и ее основных компонентов. V. количественное сравнение ИК-спектров древесины на основе внешнего стандарта – гексаферрицианида калия // Химия древесины. 1975. № 1. С. 56.
- 21. Карклинь В.Б., Крейцбере З.Н., Екабсоне М.Я. ИКспектроскопия древесины и ее основных компонентов. VII. Определение по ИК-спектрам содержания лигнина в препаратах березовой древесины, разрушенной грибом Fomitopsis pinicola // Химия древесины. 1975. № 2. С. 53.
- Traoré M., Kaal J., Martínez Cortizas A. Application of FTIR spectroscopy to the characterization of archeological wood // Spectrochim. Acta A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2016. V. 153. P. 63.
- Пожидаев В.М., Ретивов В.М., Панарина Е.И., Сергеева Я.Э., Жданович О.А., Яцишина Е.Б. Разработка метода идентификации породы древесины в археологических материалах методом ИК-спектроскопии // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 12. С. 911. (Pozhidaev V.M., Retivov V.M., Panarina E.I., Sergeeva Ya.E., Zhdanovich O.A., Yatsishina E.B. Development of a Method for Identifying Wood Species in Archaeological Materials by IR Spectroscopy // J. Anal. Chem, 2019. V. 74. № 12. Р. 1192.)

———— ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ ——

УДК 543.4

ПРЯМОЙ АТОМНО-ЭМИССИОННЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЕРЫ В УГЛЕРОДНЫХ МАТЕРИАЛАХ С ДУГОВЫМ ИСТОЧНИКОМ ИЗЛУЧЕНИЯ

© 2021 г. Д. О. Антонов^{а, *}, Э. Г. Силькис^b, Б. К. Зуев^а

^аИнститут геохимии и аналитической химии Российской академии наук ул. Косыгина, 19, Москва, 119991 Россия ^bИнститут спектроскопии Российской академии наук ул. Физическая, 5, Троицк, Москва, 108841 Россия *e-mail: d.antonov3756@gmail.com Поступила в редакцию 14.10.2020 г. После доработки 18.11.2020 г. Принята к публикации 05.12.2020 г.

Для прямого экспрессного определения серы в чистых графитовых порошках использован эмиссионный метод с аргоновым дуговым источником, позволяющим существенно подавить помехи молекулярного спектра CN. Предложен метод временной селекции аналитического сигнала серы на линии 921.286 нм (регистрация сигнала в определенном интервале 9.8 с). Предел обнаружения серы — 5×10^{-4} мас. %. Диапазон определяемых содержаний $5 \times 10^{-4} - 2 \times 10^{-2}$ мас. %, который может быть расширен до 1 мас. %. Время единичного анализа (3 параллельных измерения) — 10 мин. Работа выполнена на компактном спектрометре MC-300 с эффективным в области 908—930 нм диодным линейным фотоприемником типа S13496.

Ключевые слова: атомно-эмиссионный спектральный анализ, углеродные материалы, дуговой источник излучения, определение серы, системы регистрации на линейных приборах с зарядовой связью. **DOI:** 10.31857/S0044450221050066

В современной промышленности углеродные материалы широко применяются как антифрикционные, конструкционные и функциональные материалы для работы в агрессивных средах; для создания графитополимерных композитов; для получения карбидокремниевых материалов, обладающих исключительно высокими механическими характеристиками; как замедлители в атомной энергетике [1].

Одна из наиболее важных характеристик углеродных материалов на разных технологических стадиях является концентрация серы. Примесь серы содержится в прекурсорах искусственного графита – пеке и коксе, получаемых из природного углеводородного сырья, всегда содержащего серу. Сера существенно влияет на технологические характеристики углеродного материала: ее присутствие изменяет свойства прекурсоров углеродных матреиалов, она воздействует на процессы формования и карбонизации, а также катализирует графитацию и ингибирует силицирование [2–4].

Для определения серы в углеродных материалах и их прекурсорах стандартными являются гравиметрический метод Эшка [5] и метод с алкилметрическим титрованием [6]. В АО "НИИ-Графит" разработаны кулонометрический и рентгенофлуоресцентный методы [7, 8]. Кроме того, описано определение серы в углеродных материалах методами иодометрического титрования [9], атомно-эмиссионной и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой [10], молекулярной флуоресцентной спектроскопии [11]. Все указанные методы, кроме рентгенофлуоресцентного, требуют сложной и длительной пробоподготовки вследствие высокой химической стойкости углеродных материалов и невозможности полного их перевода в раствор или газ. Пробоподготовка связана со сжиганием углеродного материала или химической экстракцией серы, что представляет собой длительный (порядка нескольких часов) процесс, не исключающий возможности потери серы.

В углеродной промышленности часто возникает необходимость быстрого контроля сырья, полуфабрикатов и продукции, поэтому разработка экспрессного метода определения серы и соответствующего прибора, обладающего высокими чувствительностью и точностью, весьма актуальна. Атомно-эмиссионный спектральный анализ с применением современных многоканальных систем регистрации спектров позволяет проводить быстрые измерения и обладает высокой чувствительностью. В промышленной и лабораторной практике распространено определение металлических примесей в углеродных материалах эмиссионным методом; с определенными модификациями этот метод может применяться и для определения неметаллических примесей.

Особенность эмиссионного спектра серы состоит в том, что самые интенсивные атомные линии лежат в вакуумной ультрафиолетовой и ближней инфракрасной областях [12]. Для определения примесей серы в сталях используют атомные линии серы 180.73 и 182.03 нм [13]. К сожалению, работа в этом диапазоне требует вакуумного или газонаполненного (Ar, N) дорогостоящего и сложного спектрографа.

Вне вакуумного ультрафиолетового диапазона, наиболее интенсивными являются атомные линии 921.286, 922.809 и 923.753 нм [14—16]. В работах [17, 18] по определению серы в геологических образцах с помощью высокотемпературного гелиевого плазмотрона эти линии также выбраны в качестве аналитических.

Цель данной работы — разработка методики определения содержания серы в графитовых порошках на дуговом аргоновом спектрометре. Основное внимание уделяли достижению высокой пороговой чувствительности и созданию недорогого целевого эмиссионного спектрометра, построению рабочей градуировки в диапазоне 5×10^{-4} — 2×10^{-2} мас. % для практической работы с чистыми графитовыми порошками. При создании установки использовали компактный спектрометр МС-300 [19] с системой регистрации на высокочувствительном диодном линейном фотоприемнике S13496.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Схема спектрометра изображена на рис. 1. Источником возбуждения спектра в образцах служила дуга постоянного тока между угольными электродами с испарением порошкообразного образца из кратера нижнего электрода (метод фракционной дистилляции). В качестве нижнего электрода применяли фассонные графитированные спектральные угли класса ос. ч. 7-4, тип IV диаметром 6 мм с кратером диаметром 4 и глубиной 4 мм, в качестве верхнего – тип II, заточенный на усеченный конус с острием диаметром 2 мм. Масса навески образца составила 50 мг. Разрядный промежуток (3 мм) выбирали таким образом, чтобы максимально снизить попадание излучения нагретых электродов на входную щель спектрометра. Для доочистки от остаточных примесей в электродах их подвергали обжигу в дуге

постоянного тока силой 20 А на воздухе в течение 15 с. Такой метод подготовки электродов при анализе углеродных материалов описан в работе [20]. Для создания разряда в среде аргона применяли устройство типа Stallwood jet [21], поставляемое в комплекте со штативом УШТ-4. На него устанавливали защитный цилиндр из кварцевого стекла, отделяющий область разряда от окружающего пространства. Применение такого цилиндра позволило получать стабильный разряд при низком расходе аргона на уровне 1 л/мин, исключить попадание воздуха в разрядный промежуток и сдувание плазмы. Верхний электрод включался катодом, нижний – анодом. Для определения наилучшего отношения сигнал/шум регистрации аналитической линии измерения проводили в диапазоне значений тока 15-24 А; выбрано рабочее значение в 20 А. Работа при весьма высоких силах тока обусловлена необходимостью быстрого и стабильного прогрева кратера с порошкообразным образцом, что важно при получении спектров углеродных материалов в условиях фракционной дистилляции образца.

Для получения и регистрации спектров применяли компактный, перестраиваемый по длинам волн спектрометр МС-300, выполненный по вертикально симметричной схеме Эберта с дифракционной решеткой 1200 штр/мм. Система регистрации спектров выполнена на линейном диодном детекторе типа \$13496 фирмы "Hamamatsu" (Япония) [22], позволяющем одновременно регистрировать спектр на участке 75 нм со спектральным разрешением 0.1 нм в диапазоне от 190 до 1000 нм [19].

По сравнению с ранее применявшимся в MC300 ПЗС-детектором TCD1304DG фирмы "Toshiba" (Япония) [23] величина сигнала увеличилась в 5 раз при длине волны 921 нм. Динамический диапазон регистрации также увеличился более чем в 2.5 раза. В электронике управления и обработки сигнала применяли 16-разрядный АЦП [24].

Для освещения входной щели спектрографа использовали кварцевый рефокусатор с F = 25 мм, отображение разряда осуществлялось на оптическое волокно диаметром 400 мкм [25]. Для отсечения спектров второго порядка спектрографа, накладывающихся на исследуемую область, применяли фильтр из цветного стекла марки КС-19 с областью пропускания от 700 нм. Спектры регистрировали в режиме временной развертки (режим "серия" в ПО "МОРС") [19]. Оптимальное время единичного кадра серии выбирали для получения максимальной чувствительности И предотвращения перегрузки сигнала аналитических линий при высоких концентрациях серы в образце; оно составило 240 мс. Предварительную калибровку шкалы осуществляли с помощью



Рис. 1. Схема спектрометра для измерения концентрации S в графитах: *1* – катод, *2* – анод, *3* – дуговой разряд, *4* – кварцевый цилиндр, *5* – устройство ввода аргона в разрядный промежуток, *6* – рефокусатор, *7* – светофильтр КС-19, *8* – оптическое волокно, *9* – спектрометр МС-300, *10* – система регистрации спектра.



Рис. 2. Спектр углерода с примесью 1.76×10^{-2} мас. % серы в среде воздуха, регистрируемого в рабочем поле спектрометра. Диапазон 902–934 нм.

лампы с полым катодом Fe–Ne, а калибровку выбранного рабочего спектрального участка – по линиям серы, углерода и аргона.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 2 показан участок спектра 902–934 нм, полученный на созданном спектрометре, при этом дуговой источник работал в среде воздуха. По канту 914.203 нм определено, что в области от канта до 930 нм регистрируются линии молекулы CN [26, 27], являющиеся помехами при регистрации линии S 921.286. На рис. За показан участок спектра в диапазоне 912—927 нм во втором кадре рабочей серии, где есть примесь воздуха и соответственно присутствует молекулярный спектр CN, на рис. Зб показана сумма спектров третьего и четвертого кадров этой же серии, уже без CN.

Применение аргона позволило максимально ослабить молекулярный спектр CN. Другим источником помех является тепловое излучение электродов, представляющее собой непрерыв-



Рис. 3. Участок эмиссионного спектра (912–927 нм) углеродного материала, содержащего серу, полученный на дуговом источнике в среде аргона: (а) – в присутствии примеси воздуха; (б) – в отсутствие примеси воздуха, тот же спектр (два суммированных кадра серии) без спектра CN.

ный спектр, средний уровень интенсивности которого искажается интерференцией (предположительно на входном стекле диодного линейного детектора) (рис. 3б), флуктуации этого спектра ухудшают значение предельной чувствительности по сере.

Соотношение амплитуд сигналов двух линий S 921.286 и 923.749 составляет 2 : 1, в качестве аналитической выбрана линия 921.286 нм, линий помех по этой линии в данных спектрах нет. Третья линия S 922.811 в данном спектре находится на склоне линии Ar 922.450 нм. Измерения в воздушной среде показывает, что амплитуда этой линии составляет порядка 0.75 от амплитуды линии 921.286 нм.

Аттестовнные образцы сравнения типа "сера в чистом графите" для построения градуировочной кривой не разработаны и не производятся. Для изготовления таких образцов в определенном диапазоне концентраций тщательно проанализировали образец порошкообразного графита класса ос. ч. 8-4 (образец с наименьшей концентрацией) и образец с концентрацией, близкой к 2×10^{-2} мас. %. Для определения концентрации серы в образце ос. ч. 8-4 использовали спектрометр ЕА5000 (молекулярный

УФ-флуоресцентный метод) с чувствительностью по сере на уровне 6×10^{-5} мас. %. Концентрация серы в этом образце составила 5×10^{-4} мас. %. Для анализа образцов с большой концентрацией серы применяли гравиметрический метод Эшка (ООО "ГрафитЭл-МЭЗ"), рентгенофлуоресцентный метод (АО "НИИГрафит"), атомно-эмиссионную спектроскопию с индуктивно связанной плазмой (ГЕОХИ РАН) и спектрометр ЕА5000. Диапазон полученных значений концентраций в образце с максимальной концентрацией серы составил 1.76×10^{-2} —2 $\times 10^{-2}$ мас. %, за исходное приняли значение 1.76×10^{-2} мас. %, полученное на приборе ЕА5000, далее это образец 176.

Смешением образцов с концентрациями 1.76×10^{-2} и 5×10^{-4} мас. % получили еще четыре образца сравнения с концентрациями 1.5×10^{-3} , 2.6×10^{-3} , 4.7×10^{-3} и 9.0×10^{-3} мас. %. Таким образом, градуировочную кривую строили по шести рабочим точкам.

Оптимальную аналитическую экспозицию выбирали на основе анализа кривых испарения в зависимости от времени экспозиции. На рис. 4 представлены кривые испарения образцов срав-



Рис. 4. Изменение интенсивности спектральной линии S 921.286 в течение 24 с. Длительность одного кадра 240 мс; концентрации серы, мас. $\%: 1 - 1.76 \times 10^{-2}, 2 - 2.6 \times 10^{-3}$. Выделена величина аналитической экспозиции, 3–43 кадры.

нения (зависимость интегральной интенсивности линии S 921.286 нм). Как видно, кривая испарения S при сравнительно высоких концентрациях (1.76 × 10^{-2} мас. %), имеет максимум; максимальная интенсивность приходится на 1.2 с горения дуги (5 кадр). При более низкой концентрации 2.6 × $\times 10^{-3}$ мас. % процесс испарения серы происхолит с той же закономерностью с максимумом также на 5 кадре. Время выгорания при разных концентрациях практически одинаково при данном способе получения эмиссионого спектра. В первые 0.72 с горения дуги (кадры 1-2) наблюдается слабый спектр CN, исчезающий к 3 кадру. Данное явление обусловлено десорбцией воздуха, попадающего в кратер электрода при набивке в него порошкообразного образца, при повышении температуры в кратере. Исчезновение спектра CN является сигналом к началу аналитической экспозиции. Оптимальным временем экспозиции для построения градуировочной кривой по образцам сравнения выбрали отрезок с 3 по 43 кадр, что соответствует 9.6 с горения дуги при длительности единичного кадра экспозиции 240 мс.

На рис. 5 приведены спектры для различных концентраций серы в графите. В спектре на рис. 5а при отсутствии пробы в графитовом электроде (холостое измерение) сигнал на линии S 921.286 не детектируется. При этом метка пика этой линии лежит в минимуме двух волн интерференции сигнала от спектроскопического фона. На рис. 56, 5в приведены также участки спектров образцов сравнения с концентрациями 2.6×10^{-4} и 5×10^{-4} мас. % (ос. ч. 8-4) соответственно. Сигнал на линии S 921.286 детектируется и расчет интернали на линии S 921.286 детектируется и расчет интернализми за участки спектров образцов сравнения с концентрациями 2.6 × 10⁻⁴ и 5 × 10⁻⁴ мас. % (ос. ч. 8-4) соответственно. Сигнал на линии S 921.286 детектируется и расчет интернсивности этой линии проводится по опреде-

ленному алгоритму, а именно: необходимо вычесть интенсивность шума пикселей под линией S 921.286. Обычно вычитают сигналы пикселей, находящихся рядом с пикселями аналитической линии. Однако спектр холостого измерения позволяет найти группу пикселей на спектре, сигнал которых близок к сигналу от пикселей под линией S 921.286. Это делается по нескольким параллельным спектрам холостой пробы при достижении минимума между интегральной интенсивностью пикселей под линией и выбранной группой пикселей на спектре. Эта выбранная группа на рис. 56, 5в обозначена серым цветом, пиксели линии окрашены в черный цвет.

Три линии С (908.851, 911.156 и 940.573) и линия Ar 935.422 на рабочем участке спектра (рис. 2a) позволяют (в отсутствие линий серы при холостом измерении) откалибровать спектральную шкалу и определить центр тяжести линии S 921.286 с точностью до 0.2 пикселя. На откалиброванном спектре выбирается группа пикселей под линией S 921.286 нм и группа пикселей "учета фона". Эти же линии позволяют корректировать шкалу при термосдвиге решетки. Две более близкие к линии S 921.286 линии Ar (рис. 5а) являются диффузными и их центр тяжести сдвинут относительно своей метки из базы линий (рис. 3б), поэтому они не могут применяться для коррекции шкалы при термосдвиге решетки МС-300. Результаты измерения таких сдвигов в спектрах графитовых порошков приведены в работе [28].

На рис. 6 приведена градуировочная кривая, построенная по трем параллельным измерениям каждого из шести образцов сравнения. Кривая построена с квадратичной аппроксимацией, наиболее точно



Рис. 5. Спектры холостой пробы и образцов сравнения в диапазоне 918–930 нм: (a) – спектр холостой пробы, (б) – участок спектра образца сравнения с концентрацией серы 2.6×10^{-3} мас. %, (в) – участок спектра ос. ч. 8-4 с концентрацией серы 5×10^{-4} мас. %.



Рис. 6. Градуировочная кривая по линии S 921.286.

передающей характер эмпирической зависимости, и может быть описана уравнением: I = -7971.676 ++ 33592469.316c(S) – 686275939.602c(S)², где I – интегральная интенсивность линии S 921.286 при экспозиции 40 кадров в отсчетах АЦП, c(S) – значение концентрации серы, мас. %.

Нижняя точка градировочной кривой определена по трем параллельным измерениям образца сравнения ос. ч. 8-4, среднее значение концентрации составило 4.99×10^{-4} мас. %, относительное стандартное отклонение — 10.91%. Среднее значение отношения сигнал/шум при измерении интенсивности линии S 921.286 нм для этой серии измерений составляет 3.3:1. Таким образом, значение концентрации серы в образце ос. ч. 8-4 5 × $\times 10^{-4}$ мас. % характеризует предел обнаружения серы для данного спектрометра [29].

Продолжительность анализа (время пробоподготовки, подготовки электродов и проведения трех параллельных измерений) составила 10 мин. Полученная градуировочная зависимость позволяет определять концентрации серы в чистых углеродных материалах в диапазоне 5 × 10⁻⁴-2 × 10⁻² мас. %.

Диапазон определяемых концентраций может быть расширен до 1 мас. %. Прибор позволяет определять серу в полуфабрикатах и прекурсорах углеродных материалов. Он существенно проще и дешевле, чем дорогие аналитические приборы, применяемые для контроля содержания серы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Колокольцев С.Н. Углеродные материалы. Свойства, технологии, применения. Долгопрудный, МО: ИД Интеллект, 2012. 296 с.
- Claussea V., Bastienb T., Hoppeb S., Marêchéa J.F., Fierroa V., Celzard A. Investigation of pitch–sulphur mixtures used as binder in the preparation of black ceramics // Mater. Chem. Phys. 2009. V. 116. P. 619.
- Brandtzæg R., Øye H.A. A possible mechanism of sulphur-induced graphitization // Carbon. 1988. V. 26. № 2. P. 163.

- Tyumentsev V.A., Belenkov E.A., Shveikin G.P., Podkopaev S.A. The effects of sulfur and other impurities on carbon-graphite transitions // Carbon. 1998. V. 36. № 7–8. P. 845.
- 5. ISO 334:2013 Solid mineral fuels Determination of total sulfur Eschka method.
- 6. ISO 351:1996 Solid mineral fuels Determination of total sulfur High temperature combustion method.
- 7. ТУ 1915 019-54755093-2011 Графит кусковой.
- Кутейников А.Ф., Машкович Л.А., Егорова В.А. Рентгенофлуоресцентное определение серы в коксах // Журн. аналит. химии. 1985. Т. 11. № 7. С. 1254.
- 9. Попов В.А., Пичугин В.В., Иванов Ю.А., Беневольский А.С. Способ определения общего содержания серы в углеродосодержащих материалах. Патент СССР № 874605. Заявка 2888241/23-26 от 27.02.1980, опубл. 28.10.1981.
- 10. Amais R.S., Donati G.L., Nobrega J.A. Sulfur determination in fuels by ICP-OES and ICP-MS to meet increasingly stricter legislation requirements // Spectroscopy. 2014. V. 29. № 3. P. 24.
- https://www.analytik-jena.ru/ru/analiticheskoe-oborudovanie/produkcija/ehlementoorganicheskii-analiz-cnscl/ mikroehlementnyi-analiz/multi-ear-5000.html (09.10.2020).
- https://www.nist.gov/pml/atomic-spectra-database (09.10.2020).
- 14. *Keane J.M., Fry R.C.* Red and near infrared ICP emission spectra of F, Cl, Br, I and S with photodiode array detector // Anal. Chem. 1986. V. 58. P. 790.
- Hughes S.K., Fry R.C. Near infrared atomic emissions of Sulfur and carbon in argon ICP // Appl. Spectrosc. 1981. V. 35. № 5. P. 494.
- Schleisman A.J.J., Pivonka D.E., Fateley W.G., Fry R.C. Red/near-infrared atomic analysis for H, C, N, O, S, Cl and Br with a Fourier transform ICP emission spectrometer // Appl. Spectrosc. 1986. V. 40. № 4. P. 464.
- 17. Тюрин Д.А., Силькис Э.Г., Савинова Е.Н. Определение серы в геологических образцах и почвах с по-

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 5 2021

мощью высокотемпературного дугового плазмотрона // Журн. аналит. химии. 2018. Т. 73. № 5. С. 1.

- Савинова Е.Н., Сукач Ю.С., Колесов Г.М., Тюрин Д.А. Новые возможности атомно-эмиссионной спектроскопии для определения треудновозбудимых элементов // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70. № 5. С. 502.
- 19. http://www.ooo-mors.ru/mc.html (09.10.2020).
- Емелина О.И. Новые аналитические возможности атомно-эмиссионной спектроскопии с дуговым источником света. Дис. ... канд. хим. наук. СПб: СПбГУ, 1996
- 21. Fagan A.W., Klein H.M. Rapid loading Stallwood Jet // Appl. Spectrosc. 1968. V. 22. № 4. P. 346.
- 22. https://www.hamamatsu.com/eu/en/product/type/ S13496/index.html (09.10.2020).

- https://toshiba.semicon-storage.com/ap-en/semiconductor/product/linear-image-sensors/detail.TCD1304DG. html (09.10.2020).
- 24. http://trdc.com/ (09.10.2020).
- 25. http://www.optofiber.ru/ (09.10.2020).
- 26. *Davis S., Wallace L., Brault J., Engleman R.* The CN spectrum from the infrared to the ultraviolet / NSO Technical Report. 2005.
- 27. *Pearse R.W.B., Gaydon A.G.* Identification of molecular spectra. 3rd Ed. London: John Wiley & Sons, 1963. 347 p.
- Силькис Э.Г. Сдвиг спектральных линий некоторых элементов в излучении плазмы источников возбуждения атомно-эмиссионных спектрометров // Аналитика и контроль. 2019. Т. 23. № 1. С. 43.
- Oleneva E., Khayduhoja M., Ashina J., Yaroshenko I., Jahatspanian I., Legin A., Kirsanov D. A simple procedure to assess limit of detection for multisensor systems // Sensors. 2019. V. 19. № 6. P. 1359.
——— ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ ——

УДК 675.043.42:543.422.7:543.544.5.068.7:543.51

ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ КАТИОННЫХ И АНИОННЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ПРИ МИКРОЭКСТРАКЦИОННО-ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОМ СКРИНИНГЕ ПРОБ ВОДЫ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

© 2021 г. В. Г. Амелин^{а, b, *}, З. А. Ч. Шаока^а, Д. С. Большаков^b

^а Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых ул. Горького, 87, Владимир, 600000 Россия

^bФедеральный центр охраны здоровья животных мкр. Юрьевец, Владимир, 600901 Россия *e-mail: amelinvg@mail.ru Поступила в редакцию 22.11.2020 г. После доработки 20.12.2020 г. Принята к публикации 25.12.2020 г.

Предложен способ идентификации поверхностно-активных веществ (ПАВ) методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии (УВЭЖХ) с масс-спектрометрическим детектированием высокого разрешения после скрининга проб воды и пищевых продуктов на суммарное содержание катионных и анионных ПАВ микроэкстракционно-флуориметрическим методом. Последний основан на использовании дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции хлороформом ассоциатов ПАВ с органическими реагентами (эозин и акридиновый желтый), измерении флуоресценции полученных адлуктов с помощью смартфона, получении цветометрических характеристик RGB и определении суммарного содержания ПАВ. Установлены основные аналитические характеристики хромато-масс-спектрометрической идентификации катионных ПАВ (хлоридов алкилпириния, алкилтриметиламмония, алкилдиметилбензиламмония (бензалкония), алкилметилэтилбензиламмония, дидецилдиметиламмония, бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил]аммония, N,N-бис(3аминопропил)додециламина) и анионных ПАВ (алкилбензолсульфонатов (сульфонола), алкилсульфатов, лауретсульфатов, алкилсульфонатов и алкилкарбоксилатов натрия) при выбранных условиях хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования. Рассмотрены особенности хроматографического поведения полимергомологов ПАВ в условиях УВЭЖХ и градиентного элюирования.

Ключевые слова: катионные, анионные поверхностно-активные вещества, пищевые продукты, дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция, смартфон, ультравысокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия высокого разрешения.

DOI: 10.31857/S0044450221050042

Значительное число выявленных случаев загрязнения пишевой продукции и воды приходится на поверхностно-активные вещества. ПАВ синтезируют из природного сырья (фракции нефти, природные масла и жиры), поэтому они представляют собой сложные многокомпонентные смеси, состоящие из гомологов ПАВ и примесей исходных веществ. ПАВ активно используют на предприятиях пишевой промышленности не только с целью обеззараживания рабочих поверхностей, очистки технологического оборудования, но и в качестве неотъемлемого компонента рецептуры готовой (молочной и мясной) продукции. За счет бактерицидных, эмульгирующих, стабилизирующих и влагоудерживающих свойств применение различных ПАВ обеспечивает должную консистенцию, необходимые сроки годности и товарный вид реализуемых продуктов питания [1].

Определение конкретных ПАВ и оценку их суммарного содержания в водных объектах и пищевых продуктах проводят, главным образом, методом хромато-масс-спектрометрии [2–12].

В работе [2] описано определение хлоридов дидецилдиметиламмония и додецилбензилдиметиламмония в морской воде. Для извлечения аналитов использовали твердофазную экстракцию (**ТФЭ**) с последующим разделением полученной смеси методом жидкостной хроматографии масс-спектрометрии. Экстракт очищали при помощи полимерных (Strata-X) картриджей. Степень извлечения определяемых компонентов составила 80—105%.

Предложена методика определения бензалкония в растворенных и взвешенных частицах проб городских ливневых стоков [3]. Анализ проводили методом жидкостной хроматографии в сочетании с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (**ЖХ**-**МС**/**МС**). Установлено, что загрязнение стоков максимально (27 мг/л) во время первого дождя. Концентрация катионов бензалкония (сумма C_{12} и C_{14}) остается высокой (до 1 мг/л) даже спустя 5 мес. после обработки. Содержание ПАВ в ливневых водах составляло 0.2 мкг/л.

Методом ЖХ—МС/МС исследовано распределение гомологов алкилтриметиламмония, бензилакилдиметиламмония и диалкилдиметиламмония в 52 пробах осадков городских сточных вод. Общие концентрации указанных соединений находились в диапазоне 0.38—293, 0.09—191 и 0.64— 344 мкг/г сухого остатка [4].

Разработан простой и быстрый способ определения хлоридов бензалкония, дидецилдиметиламмония и бензэтония в образцах огурцов и апельсинов [5]. Для извлечения аналитов в работе использована дисперсионная твердофазная экстракция QuEChERS. Последующую идентификацию и определение проводили методом ВЭЖХ– MC/MC. Диапазоны определяемых содержаний составили 0.01–0.15 мг/кг, пределы обнаружения 0.4–1.0 мкг/кг, степень извлечения варьировалась в диапазоне 81–115%. Методика применена для анализа 30 образцов огурцов и апельсинов, в которых обнаружено 0.015–0.081 мг/кг хлорида бензалкония.

Сочетание пробоподготовки на основе методологии QuEChERS и метода УВЭЖХ-МС/МС использовано для определения катионных ПАВ (КПАВ) в сухом молоке [6]. Анализируемые образцы растворяли в воде, осаждали белки и проводили экстракцию целевых компонентов ацетонитрилом. Пределы обнаружения аналитов составили 0.4– 14.5 мкг/г, степень извлечения – 91.2–115% при относительном стандартном отклонении 2.8–7.5%.

Разработана чувствительная и надежная методика определения хлоридов бензалкония и диалкилдиметиламмония в молочных продуктах [7], которая включает экстракцию ПАВ смесью ацетонитрила и этилацетата без дополнительной очистки. Для анализа полученного экстракта использовали метод ВЭЖХ-МС/МС. Предел обнаружения составил менее 1.9 мкг/кг, что существенно ниже максимально допустимого уровня ПАВ (0.1 мг/кг).

Часто определяемыми анионными ПАВ являются линейные алкилбензолсульфонаты (ЛАБС) и додецилсульфат. В работе [8] предложено определение ЛАБС и алкилбензолкарбоксилатов в

сточных водах. Анионные ПАВ (АПАВ) определяли методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием после ТФЭ-извлечения аналитов. Пределы обнаружения составили 0.2–0.4 мкг/л при объеме пробы 250 мл.

Разработана методика ВЭЖХ-разделения и определения индивидуальных ($C_{10}-C_{13}$) линейных алкилбензолсульфонатов [9]. Пределы обнаружения лежат в диапазоне от 1.5 нг/л (для C_{10} ЛАБС) до 11.5 нг/л (для C_{13} ЛАБС). Методику использовали для одновременного определения ЛАБС в различных пробах воды.

Сочетание ТФЭ с ЖХ легло в основу простой и экспрессной методики определения ЛАБС в водных образцах [10]. Подготовленные пробы анализировали методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием. Пределы обнаружения ЛАБС составили 0.02–0.10 мкг/л.

Предложена методика определения индивидуальных ЛАБС и их суммы в пробах воды [13]. Особенностью методики является сочетание метода $T\Phi Э$ в автоматическом режиме, "lab-on-valve" модуля и системы капиллярного электрофореза (КЭ). Общее содержание ЛАБС определяли путем измерения собственного поглощения аналитов и окрашенных аддуктов после реакции со смесью метилового оранжевого и хлорида цетилпиридиния с пределами обнаружения 21 нг/л и 15 мкг/л соответственно. Метод определения индивидуальных ЛАБС при низких концентрациях основан на автоматическом предварительном концентрировании проб методом ТФЭ в "lab-onvalve" модуле, соединенном с системой КЭ. Полученные таким образом пределы обнаружения и определения находятся в диапазонах 1-21 и 4-70 нг/л соответственно. Методика апробирована на образцах очищенных сточных, сточных, поверхностных и морских вод.

Для идентификации 20 соединений ряда линейных алкилбензолсульфонатов в пробах воды, отобранных с очистных сооружений, предложено использовать метод газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием в режиме электронной ионизации [12]. В данной работе представлены масс-спектры 20 соединений, предложен механизм образования диагностических ионов, полученных при электронной ионизации, и распределение индивидуальных изомеров в пробах воды.

На основе комбинации дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции (ДЖЖМЭ) и ВЭЖХ в сочетании с тройной квадрупольной масс-спектрометрией разработана методика одновременного определения линейных алкилбензолсульфонатов (C₁₀, C₁₁, C₁₂ и C₁₃), нонилфенола, моно- и диэтоксилатов нонилфенола и ди-(2этилгексил)фталата в водопроводной и сточной



Рис. 1. Схема идентификации и определения катионных и анионных ПАВ в воде и пищевых продуктах микроэкстракционно-флуориметрическим и хромато-масс-спектрометрическим методами.

воде [13]. Для ЛАБС пределы определения составили 0.009–0.019 мкг/л.

Традиционные методы определения суммарного содержания ПАВ длительны [14–20]. Подобные методики основаны на жидкостной экстракции из пробы воды хлороформом ионных пар ПАВ с соответствующим красителем и определении суммарной концентрации аналитов по интенсивности флуоресценции полученного экстракта.

В условиях постоянно растущей потребности в оценке содержания остаточных количеств анионных и катионных ПАВ в пищевых продуктах необходима разработка современных экспресс-методов, обладающих высокими точностью и чувствительностью. Среди наиболее перспективных направлений можно выделить методы цветометрии при детектировании аналитического сигнала с применением современной цифровой и офисной техники [21, 22].

В работе [1] нами предложен способ определения катионных и анионных ПАВ в пищевых продуктах и воде, основанный на применении ДЖЖМЭ ассоциатов ПАВ с органическими реагентами (эозин и акридиновый желтый), измерении флуоресценции полученных аддуктов с помощью смартфона и обработки данных с использованием специализированного программного обеспечения. В качестве аналитического сигнала (A_r) использовали значения цветометрических параметров в системе RGB: $A_r = \sqrt{(R_0 - R_x)^2 + (G_0 - G_x)^2 + (B_0 - B_x)^2}$. Пределы обнаружения и определения составляли 0.005–0.05 и 0.01–0.1 мг/л соответствен-

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 5 2021

но. Градуировочные зависимости линейны с коэффициентами достоверности аппроксимации ≥0.99.

Несмотря на высокую чувствительность и экспрессность данный подход не является избирательным по отношению к конкретным катионным или анионным ПАВ и предназначен для определения их суммарного содержания с использованием метода градуировочной зависимости (для одного из группы аналитов). Идентифицировать конкретные ПАВ можно методом УВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием (УВЭЖХ-МС). В этом случае обе методики будут дополнять друг друга и составлять единый методологический подход: в случае положительного результата анализа при проведении микроэкстракционно-флуориметрического скрининга проб воды и пищевых продуктов идентификацию аналита проводят методом УВЭЖХ-МС (рис. 1).

Цель настоящей работы состояла в идентификации индивидуальных катионных и анионных ПАВ в воде и пищевых продуктах методом УВЭЖХ масс-спектрометрии высокого разрешения после проведения группового микроэкстракционнофлуориметрического определения катионных и анионных ПАВ с использованием дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции и смартфона в качестве цветорегистрирующего устройства.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Аппаратура. Для идентификации и определения ПАВ использовали ультравысокоэффективный жидкостной хроматограф UltiMate 3000 (Thermo Scientific, США), оснащенный квадруполь-времяпролетным масс-спектрометрическим детектором сверхвысокого разрешения maXis 4G. Электрораспылительную ионизацию при атмосферном давлении осуществляли с использованием устройства ionBooster (Bruker Daltonics, Германия). Хроматографическое разделение проводили на колонке ACQUITY UPLC BEH C18 (30 × 2.1 мм, 1.7 мкм) (Waters, США) в режиме градиентного элюирования.

В работе применяли аналитические весы Ріопеег РА 214С специального класса точности с пределом взвешивания 0.1 мг (Ohaus Corporation, USA), дозаторы Proline Biohit одноканальные механические переменного объема 10–100 мкл, 100–1000 мкл, 1000–5000 мкл (Biohit, Финляндия), микрошприцы объемом 500 мкл (Hamilton Сотрапу, Япония), пробирки полипропиленовые емк. 15 мл (SPL Life Sciences Co., Корея).

Реактивы. Использовали стандартные образцы хлоридов алкилпиридиния, алкилтриметиламмония, алкилдиметилбензиламмония (бензалкония), алкилметилэтилбензиламмония, дидецилдиметиламмобензилдиметил[3-(миристоиламино)прония. пил]аммония, *N*,*N*-бис(3-аминопропил)додецилалкилбензолсульфонатов амина. (сульфонола). алкилсульфатов, лауретсульфатов, алкилсульфонатов и алкилкарбоксилатов натрия (98-100%, Sigma-Aldrich, США). Основные стандартные растворы концентрацией 1 мг/мл готовили растворением точной навески препарата в деионизированной воде (не менее 18 МОм см. ОСТ 11 029.003-80). Рабочие стандартные растворы готовили последовательным разбавлением основных стандартных растворов деионизированной водой.

Использовали ацетонитрил (99.9%, Scharlab S.L., Испания), ЭДТА (этилендиаминтетраацетат натрия) (99%, ХИММЕД, Россия), трихлорметан (99.85%, Компонент-Реактив, Россия), хлорид натрия (х. ч., ХИММЕД, Россия), акридиновый желтый (ч. д. а., Союзхимпром, Россия), эозин (ч. д. а., Ленреактив, Россия), соляную кислоту (стандарт-титр, НПИП Уралхиминвест), тетраборат натрия (99.5%, Sigma-Aldrich, США).

Идентификация и определение. Идентификацию ПАВ по полученным хроматограммам проводили с использованием программного продукта DataAnalysis-4.1, TargetAnalysis (Bruker Daltonics, Германия), составление картины изотопного распределения аналита – с использованием IsotopePattern (Bruker Daltonics, Германия).

Условия хроматографического разделения. Подвижная фаза состояла из 0.1%-ной муравьиной кислоты в воде (элюент А) и 0.1%-ной муравьиной кислоты в ацетонитриле (элюент В). Осуществляли градиентное элюирование: 0 мин – 5% В, 0.5 мин – 5% В, 2 мин – 50% В, 5 мин – 100% В, 6 мин – 5% В, 8 мин – 5% В. Скорость потока подвижной фазы 0.4 мл/мин. Оптимальная температура хроматографической колонки 50°С, объем вводимой пробы 50 мкл. Температура термостата автоматического дозатора 10°С.

Условия ионизации и детектирования. Использовали электрораспылительную ионизацию в устройстве ionBooster (Bruker Daltonics, Германия). Установлены следующие оптимальные значения параметров ионизации: напряжение на щите капилляра 400 В, напряжение на капилляре 1000 В, давление газа-распылителя азота 4.76 атм, поток газа-осушителя азота 6 л/мин, температура газа-осушителя азота 200°С, поток газа-испарителя азота 250 л/ч, температура газа-испарителя азота 250°С.

Проводили регистрацию ионов в диапазоне значений m/z 100 до 1200. Для калибровки масс использовали раствор формиата натрия 10 мМ в смеси вода—изопропиловый спирт (1 : 1). Масс-спектр калибранта снимали в интервале времен хроматографирования от 9.5 до 10 мин. Катионные ПАВ регистрировали в режиме положительных ионов, анионные — в режиме отрицательных ионов.

Пробоподготовка [1]. Твердые продукты (мясо, фрукты), молоко. Навеску пробы массой 1.00 г помещали в пробирку емк. 15 мл, добавляли 1 мл этилового спирта, 9 мл деионизированной воды, встряхивали в течение 5 мин и центрифугировали 5 мин при 5000 об/мин. Отбирали 1 мл полученного экстракта в пробирку емк. 15 мл, добавляли 100 мкл 0.05%-ного раствора красителя, 100 мкл 2%-ного раствора тетрабората натрия (для системы КПАВ-эозин) или 1 М HCl (для системы АПАВ-акридиновый желтый), 100 мкл 10%-ного раствора NaCl (для системы КПАВ-эозин), 100 мкл раствора ЭДТА (10 мг/л). Смесь перемешивали, объем доводили до 10 мл деионизированной водой. С помощью шприца в подготовленную пробу впрыскивали 500 мкл экстрагирующей смеси хлороформ-ацетонитрил (1:4, по объему). Смесь тщательно встряхивали, затем центрифугировали в течение 5 МИН при 5000 об/мин. При положительном результате с помощью микрошприца отбирали 50 мкл экстракта в микрофлакон для хроматографирования и упаривали досуха в токе азота. К сухому остатку добавляли 100 мкл ацетонитрила, 900 мкл деонизированной воды и тщательно перемешивали до растворения. Полученный раствор хроматографировали.

Вода. Пробу воды объемом 10 мл помещали в пробирку емк. 15 мл, приливали 100 мкл 0.05%-ного раствора красителя, 100 мкл 2%-ного раствора тетрабората натрия (для системы КПАВ–эозин) или 1 М HCl (для системы АПАВ–акридиновый желтый), 100 мкл 10%-ного раствора NaCl (для системы КПАВ–эозин), 100 мкл ЭДТА (10 мг/л). Смесь перемешивали, затем с помощью

шприца в подготовленную пробу впрыскивали 500 мкл экстрагирующей смеси смеси хлороформ—ацетонитрил (1:4, по объему). Смесь тщательно встряхивали, затем центрифугировали в течение 5 мин при 5000 об/мин. При положительном результате с помощью микрошприца отбирали 50 мкл экстракта в микрофлакон для хроматографирования и упаривали досуха в токе азота. К сухому остатку добавляли 100 мкл ацетонитрила, 900 мкл деонизированной воды и тщательно перемешивали до растворения. Полученный раствор хроматографировали.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Условия хроматографического разделения во многом обусловлены особенностями используемого метода детектирования. Выбор элюентов для проведения хроматографического анализа с последующим масс-спектрометрическим детектированием крайне невелик. Использование более высокомолекулярных в сравнении с муравьиной кислотой и формиатом аммония уксусной кислоты и ацетата аммония является причиной значительного уменьшения эффективности ионизации определяемых соединений в условиях электрораспыления в устройстве ionBooster.

Учитывая особенности физико-химических свойств разделяемых соединений в качестве подвижной фазы использовали растворы 0.1%-ной муравьиной кислоты в воде (элюент А) и 0.1%ной муравьиной кислоты в ацетонитриле (элюент В). Характер программы градиентного элюирования обусловлен не только природой определяемых компонентов, но и параметрами хроматографической колонки. В ходе серии экспериментов установлено, что оптимальной является следующая программа градиентного элюирования: 0 мин – 5% В, 0.5 мин – 5% В, 2 мин – 50% В, 5 мин – 100% В, 6 мин – 5% В, 8 мин – 5% В при скорости потока подвижной фазы 0.4 мл/мин, температуре хроматографической колонки 50°С и объеме вводимой пробы 50 мкл.

Кроме того, данные условия являются универсальными для большого числа соединений [24– 27], поскольку при использовании микроколонки (30 × 2.1 мм, диаметр зерна сорбента 1.7 мкм) скорость подачи подвижной фазы и программа элюирования должны обеспечить равномерное вымывание соединений в соответствии с их гидрофобностью, а также очистку и кондиционирование колонки. Данные условия с позиции хроматографического анализа способствуют унификации множества подходов, предложенных ранее в работах [24–27]. Используя разные способы экстракции и концентрирования для определения аналитов различной природы аналитическая (испытательная) лаборатория может применять одно и тоже оборудование без смены колонки, детальной настройки параметров ионизации и электрораспыления. Данная особенность, в свою очередь, обеспечивает необходимую экспрессность, универсальность и экологичность метода УВЭЖХ-МС.

Идентификация ПАВ методом хромато-массспектрометрии. Идентификацию ПАВ проводили по полученным хроматограммам с использованием программы TargetAnalysis-1.3 (Bruker Daltonics, Германия), с помощью созданной базы данных (табл. 1) и идентификационным параметрам. Обработку хроматограмм по общему ионному току и хроматограмм извлеченных масс ионов проводили с использованием программы DataAnalysis-4.1 (Bruker Daltonics, Германия). Составление картины изотопного распределения аналитов выполняли с использованием программы IsotopePattern (Bruker Daltonics, Германия).

Идентификационными параметрами служили времена удерживания (± 0.1 мин), точность моноизотопной массы иона (m/z) (± 5 млн⁻¹) и *mSigma* (<20). Параметр *mSigma* характеризует соответствие теоретического изотопного распределения практическому (рис. 2). Погрешность в определении масс ионов не превышала ± 4 млн⁻¹ (n = 3).

Пределы обнаружения ($c_{\text{мин}}$) рассчитывали по отношению аналитического сигнала (интенсивности пика) к шуму, равному 3. Пределы обнаружения составили 0.01–0.5 мкг/л (табл. 1, 2), что значительно ниже, чем в случае скринингового метода (10–50 мкг/л [1]).

Катионные ПАВ. На рис. 3 и 4 представлены масс-хроматограмммы алкилдиметилбензиламмония (АДМБА, бензалкония) и алкилметилэтилбензиламмония (АМЭБА). Из рисунков следует, что данные препараты представляют собой смесь гомологов с длиной углеводородного радикала от C₆ до C₁₉. АДМБА содержит максимальное количество соединений с длиной углеводородного радикала C_{12} и C_{14} , АМЭБА – C_{11} , C_{13} и С15. Большинство гомологов представляют собой смесь изомерных форм, частично разделенных в данных условиях хроматографирования (рис. 3, 4). Особенно это характерно для АДМБА С11 и С13, для АМЭБА С₁₀, С₁₂, С₁₃, С₁₄, С₁₅ и С₁₇. Времена удерживания гомологов линейно увеличиваются с увеличением длины углеводородного радикала. Зависимость времени удерживания от числа атомов углерода в гомологе описывается уравнениями, представленными в табл. 1. Коэффициенты корреляции линейных зависимостей составляют не менее 0.99.

КПАВ	Ион	n	<i>t</i> _R , мин	m/z	Δ, млн ⁻¹	с _{мин,} мкг/л	Уравнения времен удерживания и характеристических ионов	R^2
Алкилпиридиний	$[C_{u}H_{2u+1}NC_{5}H_{5}]^{+}$	10	4.5	220.2059	2	0.1	$t_{\rm R} = 0.2167n + 2.3333$	0.9996
	n 2n + 1 = 5 - 53	11	4.7	234.2216	3	0.1		
		12	4.9	248.2373	3	0.1	m/z = 14.016n + 80.049	0.9998
		13	5.2	262.2529	4	0.1		
		14	5.4	276.2686	2	0.01		
		15	5.6	290.2842	3	0.01		
		16	5.8	304.2999	1	0.01		
Алкилтриметилам-	$[C_{n}H_{2n+1}(CH_{3})_{3}N]^{+}$	10	4.5	200.2373	2	0.1	$t_{\rm R} = 0.2167n + 2.3333$	0.9996
моний		11	4.7	214.2529	3	0.1		
		12	4.9	228.2686	4	0.01	m/z = 14.015n + 60.083	1.000
		13	5.2	242.2842	3	0.01		
		14	5.4	256.2998	3	0.01		
		15	5.6	270.3155	2	0.01		
		16	5.8	284.3312	2	0.01		
Алкилдиметил-	[C ₆ H ₅ CH ₂ N	6	3.9	220.2060	2	0.1	$t_{\rm R} = 0.19n + 3.02$	0.9972
бензиламмоний	$(CH_3)_2C_nH_{2n+1}]^+$	8	4.5	248.2373	3	0.1		
(оензалконии)		10	4.9	276.2686	1	0.1	m/z = 14.016n + 136.11	1.000
		11	5.1	290.2842	2	0.1		
		12	5.3	304.2999	3	0.01		
		14	5.7	332.3312	4	0.01		
		15	5.9	346.3468	3	0.1		
		16	6.1	360.3625	3	0.1		
		18	6.4	388.3940	2	0.1		
Алкилметилэтил-	[C ₆ H ₅ CH ₂ N(CH ₃)	10	5.2	290.2842	2	0.1	$t_{\rm R} = 0.1558n + 3.5968$	0.9933
бензиламмоний	$(C_2H_5)C_nH_{2n+1}]^+$	11	5.3	304.2999	3	0.1		
		12	5.4	318.3155	4	0.01	m/z = 14.016n + 150.13	1.000
		14	5.8	346.3468	3	0.01		
		16	6.1	374.3781	2	0.1		
		18	6.4	402.4094	4	0.1		
<i>N</i> , <i>N</i> -бис(3-амино-	[C ₁₂ H ₂₅ NH	_	3.9	300.3373	2	0.1	—	-
пропил)-додецил- амин	$(C_3H_6NH_2)_2]^+$							
Дидецилдиметил- аммоний	$[(C_{10}H_{21})_2N(CH_3)_2]^+$	_	5.9	326.3781	3	0.01	_	_
Бензилдиметил[3- (миристоиламино) пропил]аммоний (мирамистин)	$[C_6H_5CH_2N(CH_3)_2$ $C_3H_6NHCOC_{13}H_{27}]^+$	_	5.3	403.3689	4	0.1	_	_

Таблица 1. Аналитические характеристики катионных ПАВ, определяемых методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии—масс-спектрометрии



Рис. 2. Масс-спектр бензалкония хлорида (C₁₄), сгенерированный программой IsotopePattern (а) и полученный экспериментально (б).



Рис. 3. Масс-хроматограммы хлорида алкилдиметилбензиламмония (бензалкония) $[C_6H_5CH_2N(CH_3)_2C_nH_{2n+1}]^+$, где n = 6, 8, 10, 11, 13, 15, 16, 18 (a), n = 12, 14 (б) (c = 100 нг/мл).

На рис. 5 показаны масс-хроматограммы индивидуальных КПАВ. Данные соединения не содержат изомерных форм, поэтому представлены симметричными хроматографическими пиками. Анализировали экстракты кожуры яблок, куриной грудки и томатов на наличие катионных ПАВ. По итогам предварительно проведенного скрининга микроэкстракционно-флуориметри-

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 5 2021

АМЕЛИН и др.

Амелинги др.

АПАВ	Формула	n, m	<i>t</i> _R , мин	m/z	Δ, млн ⁻¹	с _{мин,} мкг/л	Уравнения времен удерживания и характеристических ионов	<i>R</i> ²
Алкилбензол-	$[C_nH_{2n+1}C_6H_4SO_3]^-$	10	6.4	297.1519	2	0.1	$t_{\rm R} = 0.341n + 2.990$	0.9966
сульфонаты (сульфонол)		11	6.7	311.1675	3	0.01		
		12	7.1	325.1832	1	0.01	m/z = 14.016n + 157.010	0.9998
		13	7.4	339.1988	2	0.01		
		14	7.8	353.2144	3	0.5		
Алкилсульфаты	$[\mathbf{C}_{n}\mathbf{H}_{2n+1}\mathbf{SO}_{4}]^{-}$	12	6.3	265.1470	4	0.01	$t_{\rm R} = 0.35n + 2.1$	0.9989
		14	7.0	293.1778	3	0.01	m/z = 14.015n + 96.962	1.000
Лауретсульфаты	$[C_{12}H_{25}(C_2H_4O)_mSO_4]^-$	0	6.3	265.1470	2	0.01	m/z = 44.026m + 265.147	0.9987
		1	6.5	309.1730	3	0.1		
		2	6.7	353.1992	1	0.1		
		3	6.8	397.2255	2	0.1		
		4	6.8	441.2517	3	0.1		
		6	6.8	529.3041	4	0.5		
		8	6.8	617.3565	3	0.5		
		9	6.8	661.3827	3	0.5		
	$[C_{14}H_{29}(C_2H_4O)_mSO_4]^-$	0	7.0	293.1778	2	0.01	$t_{\rm R} = 0.17m + 7.02$	0.9999
		1	7.2	337.2043	3	0.1	m/z = 44.026m + 293.178	0.9978
		2	7.4	381.2305	4	0.5		
		3	7.5	425.2568	3	0.5		
Алкилсульфонаты	$[C_n H_{2n+1} SO_3]^-$	7	4.3	179.0736	2	0.01	$t_{\rm R} = 0.405n + 1.500$	0.9933
		12	6.5	249.1519	3	0.01		
		14	6.9	277.1831	4	0.01	m/z = 44.016n + 80.965	1.000
Алкил-	$[C_nH_{2n+1}COO]^-$	11	_	199.1693	_		—	_
карооксилаты (мыла)		12	—	213.1849	—			
		13	_	227.2006	_			
		15	6.5	255.2319	3	0.1		
		16	_	269.2475	_			
		17	_	283.2631	_			

Таблица 2. Аналитические характеристики анионных ПАВ, определяемых методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии—масс-спектрометрии



Рис. 4. Масс-хроматограммы хлорида алкилметилэтилбензиламмония $[C_6H_5CH_2N(CH_3C_2H_5)C_nH_{2n+1}]^+$, где n = 10, 12, 14, 16, 17, 18, 19 (a), n = 11, 13, 15 (б) (c = 100 нг/мл).



Рис. 5. Масс-хроматограммы КПАВ: *I* – *N*,*N*-бис(3-аминопропил)додециламин, *2* – децилпиридиний, *3* – додецилтриметиламмоний, *4* – бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил]аммоний, *5* – бензалконий C14, *6* – цетилтриметиламмоний, *7* – цетилпиридиний, *8* – дидецилдиметиламмоний (*c* = 100 нг/мл).

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 5 2021



Рис. 6. Масс-хроматограммы экстракта из кожуры яблок: 1 — цетилтриметиламмоний-катион (m/z = 284.3312), 2 — дидецилтриметиламмоний-катион (m/z = 326.3781), 3 — цетилдиметилбензиламмоний-катион (m/z = 360.3625) и 4 — октадецилдиметилбензиламмоний-катион (m/z = 388.3940).

ческим методом в данных образцах установлено суммарное содержание КПАВ на уровне 2.5 ± 0.7 , 2.20 ± 0.08 и 2.0 ± 0.5 мг/кг соответственно [1]. В результате хромато-масс-спектрометрического анализа в экстракте кожуры яблок идентифицированы катионы цетилтриметиламмония (m/z == 284.3312), дидецилтриметиламмония (m/z == 326.3781), цетилдиметилбензиламмония (m/z == 360.3625) и октадецилдиметилбензиламмония (m/z = 388.3940) (рис. 6).

В экстракте воды р. Клязьма обнаружены катионы дидецилтриметиламмония, цетилдиметилбензиламмония и октадецилдиметилбензиламмония.

Анионные ПАВ. Сульфонол представляет собой смесь гомологов с длиной углеводородного радикала от C_{10} до C_{14} (рис. 7). Продукт содержит $C_{10} - 11\%$, $C_{11} - 27\%$, $C_{12} - 36\%$, $C_{13} - 20\%$, $C_{14} - 6\%$.

Лауретсульфат — амфифильное ПАВ, которое представляет собой смесь гомологов (преимущественно C_{12} и C_{14}) с различной степенью этоксилирования (m = 0-9). Следует отметить несимметричность и раздвоение (расщепление) хроматографических пиков, что может свидетельствовать о существовании в данных препаратах изомерных форм (рис. 8).

В табл. 2 приведены аналитические характеристики анионных ПАВ. Как следует из рис. 7 и 8,



Рис. 7. Масс-хроматограммы (а) и масс-спектр (б) сульфонола (c = 100 нг/мл).

данные препараты представляют собой смесь гомологов с длиной углеводородного радикала от C_{10} до C_{14} . Большинство гомологов представляют собой смесь изомерных форм, частично разделенных в данных условиях хроматографирования. Времена удерживания гомологов линейно увеличиваются с увеличением длины углеводородного радикала. Зависимость времени удерживания от числа атомов углерода в гомологе описывается уравнениями, представленными в табл. 2. Коэффициенты корреляции линейных зависимостей составляют не менее 0.99. Анион додецилсульфата на хроматограмме представлен од-



Рис. 8. Масс-хроматограммы лауретсульфата $C_{12}H_{25}(C_2H_4O)_mSO_4^-$ (*m* = 0–9) (a) и $C_{14}H_{29}(C_2H_4O)_mSO_4$ (*m* = 0–3) (б).

ним пиком с временем удерживания 6.3 мин (табл. 2).

С учетом установленных в работе аналитических характеристик выполнили хроматографический анализ экстракта растительного продукта на основе овса "Nemoloko". В ходе проведенного ранее исследования с использованием микроэкстракционно-цветометрического (флуориметрического) метода установлено суммарное содержание АПАВ на уровне (28 ± 2) мг/л [1]. На рис. 9 представлена масс-хроматограмма экстракта данного растительного продукта. В продукте вы-



Рис. 9. Масс-хроматограмма экстракта растительного продукта на основе овса "Nemoloko". Алкилбензолсульфонаты $C_{10}(I)$, $C_{11}(3)$, $C_{12}(5)$, $C_{13}(2)$, додецилсульфат (6).

явлено присутствие сульфонола (C₁₀-C₁₃) и додецилсульфат-аниона.

В экстракте воды р. Клязьма обнаружены анионы алкилбензолсульфоната (C₁₀-C₁₃) и додецилсульфат.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Амелин В.Г., Шаока З.А.Ч., Большаков Д.С. Микроэкстракционно-цветометрическое (флуориметрическое) определение катионных и анионных ПАВ в пищевых продуктах // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 3. С. 234.
- Bassarab P, Williams D., Dean J.R., Ludkin E., Perry J.J. Determination of quaternary ammonium compounds in seawater samples by solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2011. V. 1218. P. 673.
- Van de Voorde A., Lorgeoux C., Gromaire M.C., Chebbo G. Analysis of quaternary ammonium compounds in urban stormwater samples // J. Environ Pollut. 2012. V. 164. P. 150.
- Ruan T., Song S., Wang T., Liu R., Lin Y., Jiang G. Identification and composition of emerging quaternary ammonium compounds in municipal sewage sludge in China // J. Environ. Sci. Technol. 2014. V. 48. P. 4289.
- Arrebola-Liebanas F.J., Abdo M.A., Moreno J.L., Martinez-Vidal J.L., Frenich A.G. Determination of quaternary ammonium compounds in oranges and cucumbers using QuEChERS extraction and ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry // J. AOAC Int. 2014. V. 97. P. 1021.

- Xian Y., Dong H., Wu Y., Guo X., Hou X., Wang B. QuEChERS-based purification method coupled to ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) to determine six quaternary ammonium compounds (QACs) in dairy products // J. Food Chem. 2016. V. 212. P. 96.
- Slimani K., Feret A., Pirotais Y., Maris P., Abjean J.P., Hurtaud-Pessel D. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry multiresidue method for the analysis of quaternary ammonium compounds in cheese and milk products: development and validation using the total error approach // J. Chromatogr. A. 2017. V. 1517. P. 86.
- Leon V.M., Gonzalez-Mazo E., Gomez-Parra A. Handling of marine and estuarine samples for the determination of linear alkylbenzene sulfonates and sulfophenylcarboxylic acids // J. Chromatogr. A. 2000. V. 889. P. 211.
- Wangkarn S., Soisungnoen P., Rayanakorn M., Grudpan K. Determination of linear alkylbenzene sulfonates in water samples by liquid chromatography– UV detection and confirmation by liquid chromatography–mass spectrometry // Talanta. 2005. V. 67. P. 686.
- Hirayama Y., Ikegami H., Machida M., Tatsumoto H. Simple and rapid determination of linear alkylbenzene sulfonates by in-tube solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography // J. Health Sci. 2006. V. 52. P. 228.
- Moldovan Z., Avram V., Marincas O., Petrov P., Ternes T. The Determination of the linear alkylbenzene sulfonate isomers in water samples by gas-chromatography/mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2011. V. 1218. P. 343.
- Martin J., Camacho-Munoz D., Santos J.L., Aparicio I., Alonso E. Determination of priority pollutants in aqueous samples by dispersive liquid–liquid microextraction // Anal. Chim. Acta. 2013. V. 773. P. 60.
- Jimenez J.R., Luque de Castro M.D. Lab-on-valve for the automatic determination of the total content and individual profiles of linear alkylbenzene culfonates in water samples // Electrophoresis. 2008. V. 29. P. 590.
- ГОСТ 31857-2012. Вода питьевая. Методы определения содержания поверхностно-активных веществ. М.: Стандартинформ, 2014. 21 с.
- 15. ПНД Ф 16.1:2:2.2:3.66-10. Количественный химический анализ почв. Методика измерений массовой доли анионных поверхностно-активных веществ в пробах почв, грунтов, донных отложений, илов, отходов производства и потребления экстракционно-фотометрическим методом. М.: ФГБУ "ФЦАО", 2010, 18 с.
- 16. РД 52.24.439-2007. Массовая концентрация неионогенных синтетических поверхностно-активных веществ и полиэтиленгликолей в водах. Методика выполнения измерений экстракционно-фотометрическим методом. Ростов-на-Дону.: Росгидромет, 2007, 24 с.
- 17. ПНД Ф 14.1:2:4.15-95. Количественный химический анализ вод. Методика измерений массовой концентрации анионных поверхностно-активных веществ в питьевых, поверхностных и сточных во-

дах экстракционно-фотометрическим методом. М.: ФГБУ "ФЦАО", 2011, 13 с.

- ПНД Ф 14.1:2.16-95. Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений массовой концентрации катионных поверхностно-активных веществ в пробах природных и очищенных сточных вод экстракционно-фотометрическим методом. М: ФГБУ "ФЦАО", 2004, 13 с.
- 19. ПНД Ф 14.1:2.247-07. Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений массовых концентраций неионогенных синтетических поверхностно-активных веществ (СПАВ) в пробах природных и сточных вод нефелометрическим методом. М.: ФГБУ "ФЦАО", 2016, 12 с.
- ПНД Ф 14.1:2:4.194-2003. Количественный химический анализ вод. Методика измерений массовой концентрации неионогенных поверхностно-активных веществ (НПАВ) в пробах питьевых, природных и сточных вод экстракционно-фотометрическим методом в присутствии анионоактивных ПАВ (АПАВ). М.: ФГБУ "ФЦАО", 2012, 14 с.
- 21. *Моногарова О.В., Осколок К.В., Апяри В.В.* Цветометрия в химическом анализе // Журн. аналит. химии. 2018. Т. 73. № 11. С. 857.
- 22. Апяри В.В., Горбунова М.В., Исаченко А.И., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. Использование бытовых цветорегистрирующих устройств в количественном химическом анализе // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72. № 11. С. 963.
- 23. Иванов В.М., Кузнецова О.В. Химическая цветометрия: возможности метода, области применения и перспективы // Успехи химии. 2001. Т. 70. № 5. С. 411.
- 24. Амелин В.Г., Большаков Д.С. Экспресс-идентификация и определение N-нитрозаминов в пищевых продуктах методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии/квадруполь-времяпролетной масс-спектрометрии высокого разрешения по точным массам протонированных ионов // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 7S. С. S48.
- 25. Амелин В.Г., Большаков Д.С. Экспресс-определение аминогликозидов в молоке по точным массам ионов методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии/квадруполь времяпролетной масс-спектрометрии высокого разрешения // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 9S. С. S48.
- 26. *Амелин В.Г., Большаков Д.С.* Одновременное определение остаточных количеств хлорамфеникола и хлорамфеникола пальмитата в пищевых продуктах жидкостной хромато-масс-спектрометрией // Вестник Моск. ун-та. Серия 2. Химия. 2020. Т. 61. № 6. С. 420.
- 27. Амелин В.Г., Большаков Д.С., Подколзин И.В. Быстрый скрининг и определение остаточных количеств β-лактамных антибиотиков в пищевых продуктах методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии — квадруполь-времяпролетной масс-спектрометрии высокого разрешения // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 9. С. 806.

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 5 2021

———— ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ ——

УДК 543.84

НОВЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ БЕЗОПАСНОСТИ ЧАЯ, КОФЕ, КАКАО И РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ, ОСНОВАННЫЙ НА БЫСТРОМ СКРИНИНГЕ ПРОБ ОБРАЗЦОВ НА СУММАРНОЕ СОДЕРЖАНИЕ В НИХ ВСЕХ F-, CI-, Br-ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

© 2021 г. И. А. Ревельский^{а, *}, М. Е. Чиварзин^а, М. А. Герасимов^а, А. В. Фролова^а, А. М. Долгоносов^b, А. В. Скальный^с, А. И. Ревельский^а, А. К. Буряк^d

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет Ленинские горы, 1, стр. 3, Москва, 119991 Россия

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

> ^сРоссийский университет дружбы народов (РУДН) ул. Миклухо-Маклая, 6, Москва, 117198 Россия

^d Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской академии наук Ленинский просп., 23, Москва, 119071 Россия

*e-mail: i.revelsky@gmail.com Поступила в редакцию 01.12.2020 г. После доработки 21.12.2020 г. Принята к публикации 29.12.2020 г.

Предложен новый подход к оценке загрязнения чая, кофе, какао и растительных масел F-, Cl-, Brи S-органическими пестицидами и другими опасными антропогенными и природными соединениями на уровне следов. Подход обеспечивает возможность осуществления быстрого скрининга проб анализируемых образцов на суммарное содержание всех галоген- и сероорганических соединений, присутствующих в пробе. Пробоподготовка исключена. Он основан на прямой высокотемпературной окислительной конверсии анализируемого образца в потоке кислорода, поглощении присутствующих в пробе неорганических солей в реакторе, абсорбции продуктов конверсии органических соединений пробы, включающих анализируемые, деионизованной водой с образованием анионов F^- , Cl⁻, Br⁻ и SO₄²⁻, и их определении в абсорбате методом ионной хроматографии. Обеспечивается возможность одновременного достоверного определения всех летучих, среднелетучих и нелетучих галоген- и сероорганических соединений, присутствующих в одной пробе, и увеличения благодаря этому достоверности обнаружения за счет исключения их потерь в процессе анализа.

Ключевые слова: чай, кофе, какао, растительные масла, оценка безопасности, быстрый скрининг проб на суммарное содержание галоген- и сероорганических соединений.

DOI: 10.31857/S0044450221050169

Контроль загрязнения сельскохозяйственной продукции пестицидами, которые используются, либо могут быть использованы при ее выращивании и производстве, является актуальной проблемой. В состав молекул наиболее опасных пестицидов входят такие элементы, как F, Cl, Br и S. Как известно, чай, кофе, какао, растительные масла широко потребляются населением. Эти продукты содержат как пестициды (в большинстве случаев), так и другие опасные галогенорганические соединения.

При анализе пробы конкретного образца заранее никогда не известен состав конкретных соединений, присутствующих в образце. Обычно предусматривается контроль содержания ограниченного числа заданных соединений. Однако необходим способ надежного и быстрого контроля содержания всех F-, Cl- и Br-органических соединений, присутствующих в анализируемых пробах рассматриваемых продуктов на уровне следов.

Согласно Европейской базе данных, число пестицидов, разрешенных к применению при выращивании чая, кофе и какао [1], составляет около 250, и большая часть применяемых пестицидов содержит в молекуле хлор (~81% от общего числа применяемых пестицидов); ~34% – фтор, 23 и 5% – серу и бром соответственно.

В случае растительных масел общее число применяемых пестицидов составляет около 330, из них ~60% содержат в молекуле хлор, ~25% – ϕ тор, ~43% – серу и ~4% – бром.

В настоящее время в мире производится такое количество пестицидов, что на одного жителя Земли приходится 0.5 кг в год [2]. Можно предположить, что наиболее вероятно заражение указанных выше продуктов галогенорганическими пестицидами.

Наряду с пестицидами в объектах настоящего исследования может присутствовать ряд антропогенных галогенорганических соединений (хлорфенолы, бромфенолы, полибромбифенилы, полихлорбифенилы и др. [3, 4]), состав которых неизвестен. Среди природных соединений встречаются такие же, как и антропогенные.

Галогенорганические соединения, особенно хлорорганические пестициды, пагубно влияют на здоровье человека. Показано, что они отрицательно воздействуют на состояние иммунной, нервной, эндокринной, репродуктивной и дыхательной систем. Кроме того, они могут быть причиной болезни Альцгеймера, Паркинсона, диабета, онкологии, подавления иммунной системы, различных хронических заболеваний, гипертонии. Рассматривается [5–7] негативное влияние различных пестицидов, присутствующих одновременно в окружающей среде и с/х продукции, на здоровье человека.

Исследуемые сельскохозяйственные продукты широко используются населением, поэтому быстрый и надежный контроль содержания всех антропогенных и природных F-, Cl-, Br-органических соединений, особенно пестицидов, разрешенных к применению в культивации соответствующих культур, является актуальным. Особенностью чая является присутствие в нем такого высокотоксичного природного соединения, как фторацетат.

Состав большинства галогенсолержаших органических соединений, присутствующих в образцах, неизвестен. При анализе образцов конкретных продуктов какая-либо информация об известных соединениях, присутствующих в образце, также отсутствует. Общепринятый подход к определению заданных пестицидов в образцах сельскохозяйственной продукции основан на выделении аналитов из матрицы с использованием жидкостной экстракции, концентрировании экстракта и анализе концентрата методами газовой хроматографии-масс-спектрометрии $(\Gamma X - MC),$ $\Gamma X -$ МС/МС или ВЭЖХ-МС [8-43]. Число определяемых соединений составляет от нескольких до десятков и сотен соединений.

Работы [8–12] посвящены методам пробоподготовки и их сочетанию с ГХ–МС и ВЭЖХ–МС при определении пестицидов в оливковом масле, оливах и других продуктах питания [13]. Методы определения пестицидов в какао, чае и кофе рассмотрены в работах [14–20], [21–34] и [35–42] соответственно. Наиболее предпочтительным методом пробоподготовки является метод QuEChERS [18, 34, 35, 41, 43].

Пробоподготовка, а также градуировка по каждому аналиту с использованием стандартных образцов требуют больших затрат времени. Сам инструментальный анализ также является продолжительным, особенно при определении большого числа соединений.

В случае чая сложной задачей является определение природного высокотоксичного фторацетата. Пробоподготовка включает длительную экстракцию (72 ч в аппарате Сокслета), алкилирование, получение пентафторбензильного производного, и ГХ-МС-определение фторацетата на уровне следов ($10^{-6}-10^{-5}\%$) [44].

Необходимо иметь в виду, что для оценки безопасности образцов чая, кофе, какао и растительных масел необходимо оценивать содержание всех как антропогенных, так и природных соединений, содержащих в молекуле F, Cl, Br, состав которых в анализируемом образце неизвестен. Решение задачи быстрого определения содержания всех галогенорганических (известных и неизвестных) соединений, присутствующих в пробе, при использовании существующих подходов в общем случае невозможно.

Перспективным является способ определения общего содержания всех F-, Cl-, Bг- и S-органических соединений (летучих, среднелетучих и нелетучих) в пробах растительных масел на уровне следов без их выделения из матрицы до начала анализа [45]. Он основан на сожжении анализируемой пробы, содержащей галогенорганические соединения, в потоке кислорода, поглощении продуктов конверсии деионизованной водой. Весь объем абсорбата анализируют на содержание анионов F⁻, Cl⁻, Br⁻, соответствующих элементам F, Cl и Br, методом ионной хроматографии. В случае растительных масел регистрируе-

мый анион SO₄²⁻ соответствует S-содержащим органическим соединениям.

Этот метод, в отличие от общепринятых подходов, обеспечивает следующие преимущества:

• исключена пробоподготовка, необходимая для выделения аналитов из анализируемой матрицы;

• определяются все (известные и неизвестные, антропогенные и природные) F-, Cl-, Br-органических соединения, присутствующие в пробе исследуемого образца растительного масла, благодаря определению их суммарного содержания (в пересчете на элемент);

• возможно одновременное определение суммарного содержания всех (высоко-, средне- и нелетучих) галогенорганических соединений, присутствующих в пробе, благодаря их сожжению без предварительной пробоподготовки;

• регистрируются только три аниона (F⁻, Cl⁻, Br⁻) вместо тысяч органических соединений, содержащих соответствующие элементы в молекулах;

 обеспечиваются высокая чувствительность и селективность определения.

Описанный подход с использованием прямого сожжения пробы (например, масла [45], вина [46], фармацевтических субстанций [47] и других матриц [48]) применим, когда в матрице пробы отсутствуют неорганические соли, при растворении которых в воде образуются анионы F⁻, Cl⁻, Br⁻, определяемые в абсорбате продуктов конверсии анализируемых галогенорганических соединений.

Если в матрицах присутствуют неорганические соли, обычно проводят селективное выделение галогенорганических соединений жидкостной экстракцией с последующим концентрированием экстракта упариванием. Определяют заданные аналиты в экстракте, анализируя малую часть концентрата методом ГХ-МС или ВЭЖХ-МС.

Целью настоящей работы являлась разработка способа высокочувствительного определения загрязнения чая, кофе, какао и растительных масел всеми галоген- и сероорганическими соединениями, присутствующими в анализируемой пробе (как суммарного их содержания в пересчете на элемент). Способ основан на высокотемпературной окислительной конверсии пробы в потоке кислорода в присутствии неорганических солей и более достоверном обнаружении в абсорбате образующихся анионов. Кроме того, определяли суммарное содержание этих соединений в широком наборе образцов исследуемой продукции.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Пробы образцов чая, кофе и какао измельчали в кофемолке и отбирали фракцию зернением 0.5 мм. Навеска анализируемой пробы составляла около 1 мг. Ее помещали в кварцевую лодочку. В случае анализа растительных масел навеску анализируемой пробы (около 1 мг) также помещали в кварцевую лодочку. Каждую лодочку с пробой быстро вводили в кварцевый реактор в зону с температурой около 950°С в потоке чистого кислорода (99.999%). Скорость потока кислорода составляла около 5 мл/мин. Продукты сожжения пробы поглощали на выходе из реактора в абсорбере, заполненном деионизованной водой, свободной от определяемых анионов F⁻, Cl⁻, Br⁻. Объем абсорбата составлял около 1 мл. Весь объем абсорбата продуктов конверсии анализировали при использовании ионного хроматографа модели "881 Compact IC pro" (Metrohm, Херизау, Швейцария), состоящего из трех переключаемых микро-

подавительных колонок, регенирируемых серной кислотой и промываемых деионизованной водой, двухканального перестатического насоса "833IC Liquid Handling Unit", детектора по электропроводности "819IC Detector". Разделение анионов F^- , Cl^- , Br^- и их определение в водном растворе и абсорбате продуктов конверсии. содержащем те же анионы, проводили с использованием разделительной колонки "Metrosep A Supp 5" (50 × 4 мм) (Metrohm, Швейцария). В качестве элюента использовали водный 14 мМ раствор NaHCO₃. Скорость потока элюента составляла 1 мл/мин. Анализ проводили при комнатной температуре. Весь объем абсорбата подавали на концентрационную колонку. Градуировку ионного хроматографа проводили при использовании петлевого дозатора объемом 200 мкл и стандартных растворов анионов.

Селективную сорбцию анионов F⁻ и Cl⁻ вместе с Br⁻ проводили в стальных адсорбционных колонках (28 × 4 мм), заполненных катионообменниками R⁻Al³⁺ и R⁻Ag⁺ соответственно. Они были приготовлены с использованием сорбента SAC (зернение 50 мкм), обработанного 0.067 M раствором Al(NO₃)₃ для поглощения анионов F⁻, и такого же сорбента, обработанного 0.05 M раствором AgNO₃ для поглощения анионов Cl⁻ и Br⁻. Возможность селективного поглощения анионов F⁻, Cl⁻, Br⁻ при использовании адсорбционных микроколонок, заполненных такими сорбентами, предложена в работе [49] при анализе модельных смесей анионов.

Деионизованную воду (сопротивление 18.2 мОм) получали с помощью системы "Водолей М" (Химэлектроника, Россия). Объем воды, необходимый для работы в течение дня, хранили в кварцевом контейнере, который многократно промывали этой водой перед заполнением.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе исследуемыми матрицами являлись чай, кофе и какао, определение суммарного содержания F-, Cl- и Br-органических соединений в которых являлось актуальным. Для определения общего содержания галогенорганических соединений в этих матрицах прежде всего изучили подход, основанный на жидкостной экстракции, упаривании всего концентрата досуха и вводе сухого концентрата аналитов в реактор.

Исследование, проведенное по упариванию ряда растворителей, применяемых для экстракции (ацетон, этилацетат, гексан, ацетонитрил) досуха показало, что общее содержание F-, Cl-, Br- и S-органических соединений в них было на уровне 10^{-5} - 10^{-3} % – в зависимости от растворителя и определяемого элемента. Это означало, что

подход к определению общего содержания F-, Clи Br-органических соединений в твердых матрицах, таких как чай, какао и кофе, с использованием жидкостной экстракции, концентрирования экстракта и его упаривании неприменим в связи с ограничением пределов обнаружения фоном растворителей-экстрагентов.

В связи с этим представляло интерес изучение другого подхода к селективному определению галогенорганических веществ в матрицах растительных масел, чая, кофе и какао в присутствии неорганических солей. Подход основан на полном исключении предварительной пробоподготовки, изолирующей аналиты из анализируемой матрицы. Проводится прямая высокотемпературная конверсия пробы в потоке чистого кислорода с удалением неорганических солей сорбцией в реакторе из газового потока, поглощение продуктов конверсии органических соединений деионизованной водой. Анализ всего абсорбата проводится на содержание образовавшихся F⁻, Cl⁻ и Br⁻ анионов методом ионной хроматографии.

Идентификация анионов F⁻, Cl⁻, Br⁻ – продуктов конверсии галогенорганических веществ, присутствующих в пробе, обычно проводится по временам удерживания таких анионов, полученных при анализе растворов соответствующих солей. Такая идентификация не является абсолютно достоверной и надежной. Известны случаи, когда в абсорбате продуктов конверсии регистрируются муравьиная, уксусная либо пропионовая кислоты, которые могут мешать определению анионов F⁻, Cl⁻, Br⁻, присутствующих в абсорбате [50].

В связи с этим актуальным являлось и увеличение достоверности идентификации в абсорбате продуктов конверсии – анионов F⁻, Cl⁻, Br⁻, соответствующих галогенорганическим соединениям, присутствующим в пробе.

Перед началом опытов проверяли фон деионизованной воды, которую хранили в кварцевом контейнере и в стеклянных виалах, используемых в качестве абсорберов, на содержание анио-

нов F⁻, Cl⁻, Br⁻ и SO₄²⁻. Контейнер и абсорберы, использовали в работе после тщательной отмывки потоком деионизованной воды из "Водолея".

Прибор градуировали с использованием приготовленных стандартных растворов анионов для диапазона масс от 1.5×10^{-9} до 5×10^{-6} г. Полученные зависимости площади пика от соответствующей массы аниона (рассчитанной на элемент) линейны для изученных анионов для всего диапазона масс ($R^2 = 0.999$). Получены следующие градуировочные уравнения для F, Cl, Br и S: $y = 1.32 \times 10^7 x$ (F); $y = 9.11 \times 10^6 x - 7.25 \times 10^{-2}$ (Cl); $y = 3.72 \times 10^6 x - 1.92 \times 10^{-2}$ (Br) и $y = 1.97 \times 10^7 x$ (S). Относительное стандартное отклонение составляло от 0.2 до 11% в зависимости от элемента и диапазона масс (в большинстве случаев не превышало 5%). Пределы обнаружения (соотношение сигнал/шум составляло 3 : 1), рассчитанные на элемент, составили 2×10^{-11} г для фтора, хлора и серы, 5×10^{-11} г для брома.

Наиболее правильное и быстрое определение суммарного содержания галогенорганических соединений в пробах чая, кофе, какао и растительных масел может быть реализовано только при прямом вводе анализируемой пробы в реактор. В этом случае исключается пробоподготовка и проводится одновременный контроль всех летучих, среднелетучих и нелетучих органических соединений, присутствующих в пробе. Однако такой подход возможен только при исключении попадания соответствующих неорганических соединений пробы в абсорбат продуктов конверсии.

Для высокоселективного определения суммарного содержания галоген- и сероорганических соединений в пробах анализируемых матриц, существенно отличающихся по своей природе, необходимо выполнить высокоселективное удаление соответствующих неорганических солей из потока продуктов сожжения исследуемых матриц в процессе сожжения.

Прежде чем приступить к анализу проб исследуемых матриц на суммарное содержание F-, Cl-, Br- и S-органических соединений (там, где последние соединения определялись), изучили возможное влияние неорганических солей. Они диссоциируют в воде с образованием тех же анионов, которые определяются в продуктах конверсии галоген- и сероорганических соединений в абсорбате.

В случае растительных масел в кварцевую лодочку вносили водный раствор изучаемых солей (NaCl, NaF, NaBr и Na₂SO₄). Навеска каждой из солей составляла около 10^{-9} и 10^{-6} г. После упаривания воды в лодочку вносили 1 мг оливкового масла, свободного от определяемых элементов, и лодочку быстро вводили в зону реактора с температурой 950°С. Скорость потока кислорода через реактор составляла 5 мл/мин. При сжигании проб оливкового масла массой 1 мг в присутствии как 10^{-9} , так и 10^{-6} г неорганических солей (в пересчете на элемент) сигнал F, Cl, Br и S не был зарегистрирован, т.е. показано, что неорганические соли поглощались в реакторе.

Изучили также возможность селективного удаления неорганических солей за счет сорбции в реакторе из продуктов сожжения проб чая, какао и кофе, масса пробы которых составляла также около 1 мг. В этих случаях в измельченную пробу, помещенную в лодочку, добавляли около 1 мкл водного раствора солей NaF, NaCl и NaBr. После упаривания воды кварцевые лодочки, содержащие около 10^{-7} и 10^{-6} г добавленных солей (в пересчете на элемент) быстро вводили в реактор и сжигали.

Были сожжены 1 мг чая "Greenfield", кофе (Эфиопия, Арабика) и какао "Lux", в которых до добавления неорганических солей были зарегистрированы сигналы на уровне 6×10^{-11} , $\leq 2 \times 10^{-11}$ и 3.8×10^{-10} г для F⁻ и 3.5×10^{-10} , 4.6×10^{-10} и 3.2×10^{-8} г для Cl⁻ соответственно. Добавка неорганических солей к пробам чая, кофе и какао не привела к увеличению соответствующих сигналов по F⁻ и Cl⁻. Сигнал Br⁻ в этих случаях, как и в случае оливкового масла, не был зарегистрирован.

Таким образом, результаты, полученные для проб растительного масла, чая, кофе и какао показали, что неорганические соли удалялись из соответствующих продуктов высокотемпературной окислительной конверсии благодаря адсорбции на стенках реактора.

В результате этого исследования предложен метод прямого высокоселективного определения суммарного содержания галогенорганических соединений в пробах чая, кофе, какао и растительных масел, содержащих неорганические соли. Этот метод не требует пробоподготовки и позволяет проводить одновременное и быстрое определение содержания летучих, среднелетучих и нелетучих галогенорганических соединений. Метод является наиболее точным в связи с тем, что он исключает потери аналитов, присущие методам с пробоподготовкой; все аналиты, присутствующие в пробе, подлежат определению.

Обычно идентификация анионов методом ионной хроматографии основана на сопоставлении времен удерживания, зарегистрированных для анализируемой смеси и стандартного раствора анионов. При анализе абсорбата продуктов высокотемпературной окислительной конверсии пробы, содержащей галогенорганические соединения, желательно увеличение достоверности обнаружения образующихся анионов. Это связано с тем, что при конверсии некоторых матриц иногда возможна регистрация соединений, времена удерживания которых близки к временам удерживания анионов F^- и Cl⁻ (таких, например, как низкомолекулярные карбоновые кислоты либо ClO⁻ и ClO³⁻ [50]).

Для увеличения достоверности обнаружения анионов F⁻, Cl⁻ и Br⁻ в абсорбате продуктов конверсии пробы предложено использовать метод селективной адсорбции анионов при использовании адсорбционных колонок с соответствующими катионообменниками. Такие колонки помещали между разделительной колонкой и детектором по электропроводности. Как описано в методике эксперимента, для поглощения анионов F^- использовали сорбент R^-Al^{3+} , а в случае Cl^- и Br^- сорбент R^-Ag^+ .

При использовании разработанного метода определения суммарного содержания галогенорганических соединений, мы изучили суммарное содержание таких соединений в различных пробах чая, кофе, какао и растительных масел. Абсорбат продуктов окислительной конверсии анализировали методом ионной хроматографии и в комбинации с адсорбционными колонками. Идентификация F⁻, Cl⁻ и Br⁻ в абсорбате была основана как на использовании времен удерживания, так и хроматограмм, зарегистрированных после удаления анионов с использованием соответствующих адсорбционных колонок.

Однозначно показано, что в абсорбатах продуктов конверсии всех изученных образцов чая, кофе, какао и растительных масел мы определяли анионы F⁻, Cl⁻, соответствующие суммарному содержанию галогенорганических соединений.

Данные анализа исследованных образцов приведены в табл. 1 и 2.

Табл. 1 не включает сероорганические соединения в связи с тем, что они могут быть как экзогенными, так и эндогенными соединениями. Как видно из табл. 1, суммарное содержание хлорорганических соединений в чае, кофе и какао составляет от 3×10^{-5} % до 1×10^{-3} %, фторорганических от 6 × 10^{-6} % до 3 × 10^{-4} % в зависимости от продукта и образца. Броморганические соединения не были зарегистрированы. Приведенные значения существенно превышали предел определения (в пересчете на элемент) при пробе 1 мг. Мы предполагаем, что результаты табл. 1 наиболее вероятно отвечают пестицидам. Атомы галогенов (особенно хлора) могут присутствовать в молекулах этих соединений. но они могут быть и в молекулах других экзогенных и природных соединений (хлорфенолы, полихлорбифенилы, полибромбифенилы и др.).

В зеленом чае обнаружено такое опасное природное соединение, как фторацетат [44]. Однако в связи с необходимой длительной и очень сложной пробоподготовкой обычно это соединение в чае не определяют. Предлагаемый нами метод определения суммарного содержания галогенорганических соединений обеспечивает возможность одновременного обнаружения всех галогенорганических соединений, присутствующих в пробе. Этот метод является наиболее точным, он исключает пробоподготовку, которая может искажать результаты анализа. Метод обеспечивает возможность быстрого скрининга проб анализируемых продуктов на содержание F-, Cl-, Br-органических соединений, включая и фторацетат в чае. Содержание фторацетата включено в суммарное содержание фторорганических соединений в чае.

РЕВЕЛЬСКИЙ и др.

Продукт	Фтор	Хлор	Бром
Черный чай (Крым)	1.5×10^{-4}	6.5×10^{-4}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Черный чай "Ахмад"	3.0×10^{-4}	1.6×10^{-3}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Зеленый чай "Ахмад"	2.2×10^{-5}	3.5×10^{-5}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Зеленый чай "Greenfield"	6.4×10^{-6}	3.5×10^{-5}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Зеленый чай "Гёкуро" (Япония)	6.0×10^{-5}	3.0×10^{-4}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Зеленый чай "Серебряная жемчужина" (Китай)	$\leq 2.0 \times 10^{-6}$	2.0×10^{-4}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Зеленый чай "Джунджак" (Корея)	1.0×10^{-4}	5.0×10^{-4}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Венский кофе (Южная и Центральная Америка)	3.0×10^{-4}	1.5×10^{-4}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Французский кофе (Южная и Центральная Америка)	3.0×10^{-4}	1.7×10^{-4}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Арабика, Эфиопия	${\leq}2.0\times10^{-6}$	4.6×10^{-5}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Арабика, Коста-Рика	$\leq 2.0 \times 10^{-6}$	3.2×10^{-5}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Эспрессо, смесь арабики	$\leq 2.0 \times 10^{-6}$	4.9×10^{-5}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Кофе "Москва"	4.6×10^{-6}	5.6×10^{-5}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Органический кофе, Мексика	3.7×10^{-6}	1.1×10^{-4}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Какао "Золотой ярлык"	5.6×10^{-5}	9.5×10^{-4}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Какао "Люкс"	3.8×10^{-5}	3.2×10^{-3}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Какао "Van Houten"	3.4×10^{-5}	8.0×10^{-4}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Какао "Золотой ярлык"	2.6×10^{-4}	6.0×10^{-3}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Какао "Van Houten"	1.2×10^{-5}	1.1×10^{-2}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Какао "Российский"	7.0×10^{-5}	2.0×10^{-4}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$
Какао "Ашан"	1.0×10^{-4}	7.0×10^{-4}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$

Таблица 1. Суммарное содержание (%) F-, Cl-, Br-органических соединений в образцах чая, кофе и какао (в пересчете на элемент) (масса пробы около 1 мг, n = 3, P = 0.95, $s_r \le 0.1$)

Таблица 2. Суммарное содержание (%) F-, Cl-, Br- и S-органических соединений в образцах растительных масел (в пересчете на элемент) (масса пробы около 1 мг, n = 3, P = 0.95, $s_r \le 0.2$)

Образец масла	Фтор	Хлор	Бром	Cepa
Подсолнечное (Крым)	$\leq 2.0 \times 10^{-6}$	6.5×10^{-2}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$	6.2×10^{-2}
Подсолнечное нерафинированное (Тамбов)	${\leq}2.0\times10^{-6}$	1.4×10^{-3}	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$	1.2×10^{-2}
Подсолнечное нерафинированное (Алтай)	${\leq}2.0\times10^{-6}$	${\leq}2.0\times10^{-6}$	${\leq}5.0\times10^{-6}$	3.0×10^{-4}
Оливковое первого отжима экологическое (Италия)	${\leq}2.0\times10^{-6}$	${\leq}2.0\times10^{-6}$	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$	1.2×10^{-4}
Хлопковое (Москва)	${\leq}2.0\times10^{-6}$	${\leq}2.0\times10^{-6}$	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$	${\leq}2.0\times10^{-6}$
Кунжутное (Москва)	${\leq}2.0\times10^{-6}$	${\leq}2.0\times10^{-6}$	${\leq}5.0\times10^{-6}$	${\leq}2.0\times10^{-6}$
Рыжиковое (Новгород)	${\leq}2.0\times10^{-6}$	${\leq}2.0\times10^{-6}$	${\leq}5.0\times10^{-6}$	4.3×10^{-3}
Льняное (Новгород)	${\leq}2.0\times10^{-6}$	${\leq}2.0\times10^{-6}$	$\leq 5.0 \times 10^{-6}$	${\leq}2.0\times10^{-6}$

Чувствительность определения (при необходимости) может быть увеличена (по крайней мере в 10 раз) за счет увеличения навески анализируемой пробы.

Анализ проб образцов различных растительных масел, проведенный в работе [51] показал, что для некоторых из них суммарное содержание F-, Cl-, Br- и S-органических соединений существенно зависит от образца (подсолнечное масло), в то же время наблюдается высокая степень чистоты для других образцов. Полученные данные приведены в табл. 2.

Из данных табл. 2, видно, что фтор- и броморганические соединения в исследованных образцах масел на уровне предела определения (2×10^{-6} %) не обнаружены. Самыми чистыми являются образцы хлопкового, кунжутного и льняного масел (содержание Cl-, S-органических соединений ниже предела определения элемента). Им немного уступают образцы оливкового масла (Италия) и подсолнечного алтайского (по содержанию сераорганических веществ).

В то же время подсолнечные масла из Крыма и Тамбова содержат на 2.5 и 3 порядка больше хлорорганических и сероорганических соединений. Эти данные характеризуют в определенной мере безопасность анализируемой продукции. Мерой безопасности может служить уровень загрязнения продукции галоген- (и серо-) органическими соединениями.

Увеличение массы анализируемой пробы до 15 мг позволило соответственно снизить предел обнаружения по F и Cl до $1.3 \times 10^{-7}\%$ и зарегистрировать в льняном масле содержание фтор- и хлорорганических соединений на уровне $3.0 \times 10^{-7}\%$ и $7.0 \times 10^{-7}\%$ соответственно [51].

Увеличение чувствительности детектирования позволяет снизить пределы обнаружения дополнительно, когда это необходимо.

Проведенные эксперименты показали, что быстрый контроль безопасности продукции наиболее целесообразно проводить путем быстрого скрининга проб образцов на суммарное содержание галоген- и сероорганических соединений (когда это возможно). При уровне суммарного содержания, превышающего $2 \times 10^{-6}\%$ (из расчета на элемент), скрининг чая, кофе и какао наиболее целесообразно проводить с использованием пробы массой 1 мг. Для скрининга проб растительных масел также целесообразно использовать массу пробы 1 мг. Увеличение массы пробы целесообразно, если для этой навески не зарегистрирован ни один элемент.

* * *

Таким образом, предложен способ быстрого и селективного определения F-, Cl-, Br- и S-органических соединений в образцах чая, кофе, какао и растительных масел. Способ основан на определении суммарного содержания в образцах всех соединений, присутствующих в пробе, содержащих рассматриваемые элементы, на уровне следов, как обобщенного показателя загрязненности продуктов питания этими соединениями и их безопасности при потреблении. Определение суммарного содержания основано на прямой высокотемпературной конверсии пробы анализируемого образца в потоке кислорода (без пробоподготовки). При этом происходит адсорбция неорганических солей, содержащих определяемые элементы, деионизованной водой, свободной от

определяемых анионов. Анализируется весь объем абсорбата на содержание анионов F⁻, Cl⁻, Br⁻

и SO₄²⁻, соответствующих определяемым элементам, методом ионной хроматографии в сочетании с селективным поглощением анионов F⁻, Cl⁻ и Br⁻. Быстрый скрининг проб образцов рассматриваемой продукции при использовании предложенного способы позволяет резко увеличить производительность контроля таких проб на загрязнение всеми опасными соединениями различной летучести (заданными и неизвестными), содержащими в молекуле F, Cl, Br и S, и, благодаря этому, безопасности этих образцов. Такая оценка загрязненности и связанной с ней безопасности позволяет организовать гораздо более эффективный контроль за загрязнением рассматриваемой продукции опасными соединениями на уровне следов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticidesdatabase (26.11.2020).
- Blair A., Ritz B., Wesseling C., Freeman L.B. Pesticides and human health // Occup. Environ. Med. 2015. V. 72. № 2. P. 81.
- Bidleman T.F., Andersson A., Jantunen L. M., Kucklick J.R., Kylin H., Letcher R.J., Tysklind M., Wong F. A review of halogenated natural products in arctic, subarctic and nordic ecosystems // Emerg. Contam. 2019. V. 5. P. 89.
- 4. *Gribble G.W.* Naturally occuring organofluorines / Organofluorines / Ed. Neilson A.H. Berlin, Heidelberg: Springer, 2002. P. 121.
- Mostafalou S., Abdollahi M. Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives // Toxicol. Appl. Pharmacol. 2013. V. 208. P. 157.
- 6. *Kim K.H., Kabir E., Jahan S. A.* Exposure to pesticides and the associated human health effects // Sci. Total. Environ. 2017. V. 575. P. 525.
- Sabarwal A., Kumar K., Singh R.P. Hazardous effects of chemical pesticides on human health–cancer and other associated disorders // Environ. Toxicol. Pharmacol. 2018. V. 63. P. 103.
- 8. Hernando M.D., Ferrer C., Ulaszewska M., Garcia-Reyes J.F., Molina-Diaz A., Fernandez-Alba A.R. Application of high-performance liquid chromatographytandem mass spectrometry with a quadrupole/linear ion trap instrument for the analysis of pesticide residues in olive oil // Anal. Bioanal. Chem. 2007. V. 389. № 6. P. 1815.
- Gilbert-López B., García-Reyes J.F., Molina-Díaz A. Sample treatment and determination of pesticide residues in fatty vegetable matrices: A review // Talanta. 2009. V. 79. № 2. P. 109.
- García-Reyes J.F., Ferrer C., Gómez-Ramos M.J., Fernández-Alba A.R., Molina-Díaz A. Determination of pesticide residues in olive oil and olives // Trends Anal. Chem. 2007. V. 26. № 3. P. 239.
- 11. Amvrazi E.G., Albanis T.A. Multiresidue method for determination of 35 pesticides in virgin olive oil by using

liquid–liquid extraction techniques coupled with solid phase extraction clean up and gas chromatography with nitrogen phosphorus detection and electron capture detection // J. Agric. Food Chem. 2006. V. 54. № 26. P. 9642.

- Aramendia M.A., Borau V., Lafont F., Marinas A., Marinas J.M., Moreno J.M., Urbano F.J. Determination of herbicide residues in olive oil by gas chromatography– tandem mass spectrometry // Food Chem. 2007. V. 105. № 2. P. 855.
- Zhang L., Liu S., Cui X., Pan C., Zhang A., Chen F. A review of sample preparation methods for the pesticide residue analysis in foods // Cent. Eur. J. Chem. 2012. V. 10. № 3. P. 900.
- Malik A.K., Blasco C., Picó Y. Liquid chromatographymass spectrometry in food safety // J. Chromatogr. A. 2010. V. 1217. № 25. P. 4018.
- Oyekunle J.A.O., Akindolani O.A., Sosan M.B., Adekunle A.S. Organochlorine pesticide residues in dried cocoa beans obtained from cocoa stores at ondo and Ile-Ife, Southwestern Nigeria // Toxicol. Reports. 2017. V. 4. P. 151.
- Zainudin B. H., Salleh S., Mohamed R., Yap K. C., Muhamad H. Development, Validation and determination of multiclass pesticide residues in cocoa beans using gas chromatography and liquid chromatography tandem mass spectrometry // Food Chem. 2015. V. 172. P. 585.
- Olisah C., Okoh O.O., Okoh A.I. Occurrence of organochlorine pesticide residues in biological and environmental matrices in africa: A two-decade review // Heliyon. 2020. V. 6. Article e03518.
- Dankyi E., Carboo D., Gordon C., Fomsgaard I.S. Application of the QuEChERS procedure and LC–MS/MS for the assessment of neonicotinoid insecticide residues in cocoa beans and shells // J. Food Compos. Anal. 2015. V. 44. P. 149.
- 19. Okoffo E.D., Fosu-Mensah B.Y., Gordon C. Persistent organochlorine pesticide residues in cocca beans from Ghana, a concern for public health // Int. J. Food Contam. 2016. V. 3. № 5. P. 1.
- Akinneye J.O., Adeleye O.A., Adesina F.P., Akinyemi M.I. Assessment of pesticide residue on cocoa beans in Ondo State, Nigeria // Braz. J. Biol. Sci. 2018. V. 5. P. 577.
- Cao Y., Tang H., Chen D., Li L. A novel method based on MSPD for simultaneous determination of 16 pesticide residues in tea by LC–MS/MS // J. Chromatogr. B. 2015. V. 998–999. P. 72.
- 22. *Chen G., Cao P., Liu R.* A multi-residue method for fast determination of pesticides in tea by ultra-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry combined with modified QuEChERS sample preparation procedure // Food Chem. 2011. V. 125. № 4. P. 1406.
- 23. Chen H., Pan M., Liu X., Lu C. Evaluation of transfer rates of multiple pesticides from green tea into infusion using water as pressurized liquid extraction solvent and ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry // Food Chem. 2017. V. 216. P. 1.
- 24. Chen L., ShangGuan L.M., Wu Y.N., Xu L.J., Fu F.F. Study on the residue and degradation of fluorine-containing pesticides in Oolong tea by using gas chroma-

tography-mass spectrometry // Food Control. 2012. V. 25. № 2. P. 433.

- 25. Cho S.K., Abd El-Aty A.M., Rahman M.M., Choi J.H., Shim J.H. Simultaneous multi-determination and transfer of eight pesticide residues from green tea leaves to infusion using gas chromatography // Food Chem. 2014. V. 165. P. 532.
- Cladière M., Delaporte G., Le Roux E., Camel V. Multiclass analysis for simultaneous determination of pesticides, mycotoxins, process-induced toxicants and packaging contaminants in tea // Food Chem. 2018. V. 242. P. 113.
- 27. *Deng X., Guo Q., Chen X., Xue T., Wang H., Yao P.* Rapid and effective sample clean-up based on magnetic multiwalled carbon nanotubes for the determination of pesticide residues in tea by gas chromatography-mass spectrometry // Food Chem. 2014. V. 145. P. 853.
- Hou X., Lei S.R., Guo L.A., Qiu S.T. Optimization of a multi-residue method for 101 pesticides in green tea leaves using gas chromatography-tandem mass spectrometry // Braz. J. Pharmacognosy. 2016. V. 26. № 4. P. 401.
- Huo F., Tang H., Wu X., Chen D., Zhao T., Liu P., Li L. Utilizing a novel sorbent in the solid phase extraction for simultaneous determination of 15 pesticide residues in green tea by GC/MS // J. Chromatogr. B. 2016. V. 1023–1024. P. 44.
- Li Y., Chen X., Fan C., Pang G. Compensation for matrix effects in the gas chromatography-mass spectrometry analysis of 186 pesticides in tea matrices using analyte protectants // J. Chromatogr. A. 2012. V. 1266. P. 131.
- Manikandan N., Seenivasan S., Ganapathy M.N.K., Muraleedharan N.N., Selvasundaram R. Leaching of residues of certain pesticides from black tea to brew // Food Chem. 2009. V. 113. № 2. P. 522.
- 32. Martínez-Domínguez G., Romero-González R., Garrido Frenich A. Multi-class methodology to determine pesticides and mycotoxins in green tea and royal jelly supplements by liquid chromatography coupled to Orbitrap high-resolution mass spectrometry // Food Chem. 2016. V. 197A. P. 907.
- 33. Saito-Shida S., Nagata M., Nemoto S., Akiyama H. Quantitative analysis of pesticide residues in tea by gas chromatography-tandem mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization // J. Chromatogr. B. 2020. V. 1143. № 122057.
- Wu C. C. Multiresidue method for the determination of pesticides in Oolong tea using QuEChERS by gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry // Food Chem. V. 229. P. 580.
- 35. Bresin B., Piol M., Fabbro D., Mancini M.A., Casetta B., Del Bianco C. Analysis of organo-chlorine pesticides residue in raw coffee with a modified "Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe" extraction/clean up procedure for reducing the impact of caffeine on the gas chromatography-mass spectrometry measurement // J. Chromatogr. A. 2015. V. 1376. P. 167.
- 36. Sakamoto K., Nishizawa H., Manabe N. Behavior of pesticides in coffee beans during the roasting process // J. Food Hyg. Soc. Japan 2012. V. 53. № 5. P. 233.
- 37. Ceninkaya M., von Düszeln J., Thiemann W., Silwar R. Organochlorine pesticide residues in raw and roasted cof-

fee and their degradation during the roasting process // Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1984. V. 179. N_{2} 1. P. 5.

- 38. Harmoko H., Kartasasmita R.E., Tresnawati A. QuEChERS Method for the determination of pesticide residues in Indonesian green coffee beans using liquid chromatography tandem mass spectrometry // J. Math. Fundam. Sci. 2015. V. 47. № 3. P. 296.
- 39. Yang X., Wang J., Xu D.C., Qiu J.W., Ma Y., Cui J. Simultaneous Determination of 69 Pesticide Residues in Coffee by Gas Chromatography–Mass Spectrometry // Food Anal. Methods. 2011. V. 4. P. 186.
- 40. Pizzutti I.R., de Kok A., Dickow Cardoso C., Reichert B., de Kroon M., Wind W., Weber Righi L., Caiel da Silva R. A multi-residue method for pesticides analysis in green coffee beans using gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry in selective ion monitoring mode // J. Chromatogr. A. 2012. V. 1251. P. 16.
- Trevisan M.T.S., Owen R.W., Calatayud-Vernich P., Breuer A., Picó Y. Pesticide analysis in coffee leaves using a quick, easy, cheap, effective, rugged and safe approach and liquid chromatography tandem mass spectrometry: optimization of the clean-up step // J. Chromatogr. A. 2017. V. 1512. P. 98.
- 42. Dias C.M., Oliveira F.A., Madureira F.D., Silva G., Souza W.R., Cardeal Z.L. Multi-residue method for the analysis of pesticides in arabica coffee using liquid chromatography/tandem mass spectrometry // Food Addit. Contam. Part A: Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess. 2013. V. 30. P. 1308.
- 43. Cunha S.C., Lehotay S.J., Mastovska K., Fernandes J.O., Beatriz M., Oliveira P.P. Evaluation of the QuEChERS sample preparation approach for the analysis of pesticide residues in olives // J. Sep. Sci. 2007. V. 30. № 4. P. 620.
- 44. Vartiainen T., Kauranen P. The determination of traces of fluoroacetic acid by extractive alkylation, pentafluorobenzylation and capillary gas chromatography-mass spectrometry // Anal. Chim. Acta. 1984. V. 157. P. 91.
- 45. Chivarzin M.E., Revelsky I.A., Nikoshina A.V., Buldyzkova A.N., Chepeliansky D.A., Revelsky A.I., Buriak A.K. New approach to the fast screening of plant oil samples for F-, Cl-,Br- and S-organic compounds on the trace level // Talanta. 2016. V. 150. P. 113.
- 46. Федосеева М.В., Ревельский И.А., Капинус Е.Н., Никошина А.В., Бурмыкин Д.А., Самохин А.С., Чепелянский Д.А., Голубева А.В., Ревельский А.И. Быстрый скрининг вин на общее содержание F-, Cl-, Bг- и S-органических соединений // Вестн. Моск. унта. Серия 2. Химия. 2013. Т. 54. № 5. С. 257. (Fedoseeva M.V., Revelsky I.A., Kapinus E.N., Nikoshina A.V., Burmykin D.A., Samokhin A.S., Chepelyansky D.A.,

Golubeva A.V., Revelsky A.I. Rapid screening of wines for total content of F-, Cl-, Br-, and S-organic compounds // Moscow Univ. Chem. Bull. 2013. V. 68. № 5. P. 223.)

- 47. Чиварзин М.Е., Ревельский И.А., Никошина А.В., Булдыжова А.Н., Чепелянский Д.А., Ревельский А.И. Быстрый скрининг фармсубстанций на F-, Cl-, Bг- и S-содержащие органические соединения // Вестн. Моск. ун-та. Серия 2. Химия. 2015. Т. 56. № 5. С. 302. (*Chivarzin M.E., Revelsky I.A., Nikoshina A.V., Buldyzho*va A.N., Chepelyansky D.A., Revelsky A.I. Rapid screening of pharmaceutical substances for the total content of F, Cl, Br, and S containing organic compounds // Moscow Univ. Chem. Bull. 2015. V. 70. № 5. P. 302.)
- 48. Ревельский И.А., Чиварзин М.Е., Ревельский А.И., Буряк А.К. Новые подходы к аналитическому контролю, основанные на определении суммарного содержания галоген- и серосодержащих органических соединений на уровне следов // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 2. С. 129. (*Revelsky I.A., Chivarzin M.E., Revelsky A.I., Buryak A.K.* New approaches to analytical control based on the determinationof the total concentration of halogen- and sulfurcontaining organic compounds at the trace level // J. Anal. Chem. 2019. V. 74. № 2. Р. 176.)
- 49. Долгоносов А.М., Колотилина Н.К. Ионная хроматография с избирательным поглощением анионов в ходе анализа // Журн. аналит. химии. 2016. Т. 71. № 8. С. 835. (Dolgonosov A.M., Kolotilina N.K. Ion chromatography with the selective adsorption of anions during the analysis // J. Anal. Chem. 2016. V. 71. № 8. P. 803.)
- 50. Agustin A., Manahan M., Sheldon B.G. Combustion ion chromatography – Enhancing halogen detection using preconcentration methods // Braz. J. Anal. Chem. 2017. V. 4. № 15. P. 40.
- 51. Ревельский И.А., Чиварзин М.Е., Хайбуллин Д.С., Герасиомов М.А., Долгоносов А.М., Самохин А.С., Скальный А.В., Ревельский А.И., Буряк А.К. Определение суммарного содержания галоген-и сероорганических соединений в растительных маслах различной степени чистоты новый подход к оценке их безопасности // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 8. С. 730. (Revelsky I.A., Chivarzin M.E., Khaibullin D.S., Gerasimov М.А., Dolgonosov A.M., Samokhin A.S., Skalny A.V., Revelsky A.I., Buryak A.K. The determination of total halogen-, sulfur-organic compounds in vegetable oils of different degrees of purity a new approach to assessing their safety // J. Anal. Chem. 2020. V. 75. № 8. Р. 1054.)

— ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ —

УДК 543.054:543.51:543.544.5.068.7:615.276

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЕКСКЕТОПРОФЕНА ТРОМЕТАМОЛА В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА И ЕЕ ВАЛИДАЦИЯ

© 2021 г. А. П. Лакеев^{*a*, *b*, *, Е. А. Яновская^{*a*}, О. С. Брюшинина^{*a*}, Ю. Г. Зюзькова^{*a*}, Г. А. Фрелих^{*a*}, Н. Ю. Абдрашитова^{*a*}, В. В. Удут^{*a*}}

^аНаучно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук

просп. Ленина, 3, Томск, 634028 Россия

^bНациональный исследовательский Томский государственный университет, химический факультет просп. Ленина, 36, Томск, 634050 Россия

> *e-mail: lakeevs@mail.ru Поступила в редакцию 11.11.2020 г. После доработки 05.12.2020 г. Принята к публикации 15.12.2020 г.

Предложена и валидирована методика определения декскетопрофена трометамола в плазме крови человека методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ–МС/МС) с применением ибупрофена в качестве внутреннего стандарта. Оценено матричное влияние на величину отклика аналита; изучена его кратковременная и долговременная стабильность в биологической матрице и в водно-ацетонитрильном растворе, а также стабильность при замораживании и оттаивании образцов. Показано, что разбавление проб в два раза существенно не влияет на точность и прецизионность анализа¹. Предел обнаружения и нижний предел количественного определения составили 0.01 мкг/мл, линейный диапазон – 0.01–8.50 мкг/мл ($R^2 = 0.9974$), общая продолжительность анализа – 3.5 мин. Внутри- и межсерийная точность находились в диапазонах 96.66–100.00% и 94.97–97.92% соответственно. Пробоподготовка, включающая жидкостно-жидкостную экстракцию этилацетатом в кислой среде, отличается простотой выполнения и экспрессностью. Разработанная методика успешно апробирована на реальных образцах плазмы крови здоровых добровольцев в рамках сравнительного исследования фармакокинетики и биоэквивалентности генерического лекарственного средства.

Ключевые слова: декскетопрофена трометамол, ибупрофен, ВЭЖХ–МС/МС, валидация, биоаналитическая методика, плазма крови человека.

DOI: 10.31857/S0044450221050133

Нестероидные противовоспалительные препараты (**HПВП**) представляют собой группу лекарственных средств, проявляющих выраженные обезболивающие, жаропонижающие и противовоспалительные свойства. Установлено, что механизм их действия связан с неселективным ингибированием ферментов группы циклооксигеназ, участвующих в биосинтезе простагландинов РGE1, PGE2, PGF1, PGF2 и тромбоксанов A2, B2 из арахидоновой кислоты [1]. Наиболее многочисленными представителями НПВП являются производные различных органических кислот, в частности пропионовой, к группе которой относятся лекарственные средства, содержащие в качестве действующего вещества декскетопрофен (ДКП, (2S)-2-(3-бензоилфенил)пропановая кислота, схема 1, формула I), ибупрофен (ИБП, (RS)-2-(4-изобутилфенил)пропановая кислота, схема 1, формула II), кетопрофен ((RS)-2-(3-бензоилфенил)пропановая кислота), а также ряд других соединений.

¹ В этой статье под точностью авторы понимают правильность (характеризуемую систематической погрешностью; отклонение от истинного содержания). Редакция не стала вносить изменений и сохранила терминологию авторов.



Схема 1. Структурные формулы декскетопрофена (I) и ибупрофена (II).

Кетопрофен представляет собой рацемическую смесь двух энантиомеров 2-(3-бензоилфенил)пропановой кислоты. Однако ингибирующим действием в отношении изоферментов ЦОГ-1 и ЦОГ-2 обладает лишь S(+)-энантиомер декскетопрофен. В связи с этим в настоящее время наблюдается тенденция по замене рацемических препаратов на их чистые энантиомерные формы, что способствует уменьшению дозы лекарственного средства, требуемой для достижения необходимого терапевтического эффекта, снижению частоты развития побочных реакций. а также позволяет избежать негативного влияния, обусловленного R(-)-энантиомером и его метаболитами [2]. Помимо этого выделенная из рацемата чистая биологически активная форма, как правило, обладает более высокой биодоступностью [3].

Хемореактомный анализ показывает [4], что ДКП накапливается преимущественно в жировой ткани, мышцах и надпочечниках. При этом противовоспалительное и анальгетическое действие препарата может осуществляться посредством модулирования метаболизма не только простагландинов, но также лейкотриенов и энкефалинов; ингибирования ряда матриксных металлопротеиназ и глутаматных рецепторов. Кроме того, авторы указывают на возможные антиагрегантные, вазодилататорные, противоопухолевые и противодиабетические свойства ДКП.

Элиминация ДКП включает процессы его биотрансформации, протекающие в печени путем конъюгации с глюкуроновой кислотой (в основном с ацилглюкуронидом), и последующую экскрецию из организма почками в виде различных метаболитов, представленных главным образом гидроксильными производными [5]. Однако у людей гидроксилирование играет второстепенную роль [6]. В основных метаболических путях ДКП задействованы как минимум два изофермента цитохрома Р450 – СҮР2С8 и СҮР2С9 [7]. Сообщается, что период полувыведения и клиренс препарата у здоровых людей после однократного приема внутрь составляют 1.05 ± 0.04 ч и $0.089 \pm 0.004 \, \text{л}^{-1} \, \text{ч}^{-1} \, \text{кг}^{-1}$ соответственно [8]; связывание с белками плазмы – 99.2% [6].

В готовых лекарственных формах ДКП используется в виде водорастворимой трометамоловой соли (декскетопрофена трометамол), до-

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 5 2021

ступной в виде покрытых оболочкой таблеток или растворов для парентерального (внутримышечного и внутривенного) введения.

В литературе имеются данные по идентификации ДКП методом обращенно-фазовой ВЭЖХ (ОФ-ВЭЖХ) с УФ-детектированием. Однако большая часть работ посвящена определению препарата в небиологических матрицах [2, 9–15]; лишь в единичных публикациях представлено определение ДКП в моче или плазме крови животных и человека [16-18]. Описанные способы пробоподготовки являются довольно трудоемкими, а приведенная информация об используемых аналитических методиках недостаточна для их полной валидации в соответствии с требованиями European Medicines Agency (EMA) [19] и Государственной фармакопеи РФ XIV издания [20]. Так, в работе [16] для ОФ-ВЭЖХ с УФ-детектированием величина нижнего предела количественного определения (НПКО) декскетопрофена трометамола при анализе образцов плазмы и мочи человека составила 0.01 мкг/мл, что сопоставимо с полученными нами результатами. Однако валидационные характеристики методики авторами не приведены, а использованный способ пробоподготовки (жидкостно-жидкостная экстракция (ЖЖЭ) этилацетатом в кислой среде с последующим высушиванием органической фракции в токе азота) является довольно трудоемким. Нами показано, что ЖЖЭ этилацетатом с добавлением 0.6 М H₂SO₄ достаточна для достижения указанного значения НПКО. Это позволит значительно сократить продолжительность анализа при работе с большим количеством образцов. Кроме того, известно, что масс-спектрометрическое (МС) детектирование по сравнению с детектированием в УФ-диапазоне имеет ряд преимуществ, в частности, характеризуется более высокой селективностью. Это важно, поскольку при пробоподготовке биобразцов наряду с аналитом часто происходит соэкстракция белков исследуемой матрицы. В работе [17] валидация метолики определения декскетопрофена трометамола проведена с использованием плазмы крови кроликов, имеющей иные биохимические показатели по сравнению с плазмой человека. В работе [18] величина НПКО, равная 0.01 мкг/мл, достигнута с применением метода ВЭЖХ-МС в режиме мониторинга одиночного иона в отрицательной области. Указанный режим характеризуется недостаточной специфичностью в отношении аналитов, находящихся в сложных биологических матрицах. Данную проблему можно решить, используя режим мониторинга заданных реакций (**M3P**), обеспечивающий приемлемую эффективность в отсекании фона.

Цель настоящей работы — разработка и валидация методики определения декскетопрофена трометамола в плазме крови человека с использованием ОФ-ВЭЖХ в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (MC/MC), включающая оптимизацию условий пробоподготовки по критериям экспрессности и чувствительности.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы. В качестве стандартных образцов использовали субстанции (содержание основного вещества не менее 99.96%) декскетопрофена трометамола производства "Чжэцзян Рэйбоу Фармасьютикал Ко., Лтд." (Китай) и ибупрофена компании "Sigma-Aldrich" (США), выступающего в роли внутреннего стандарта (ВС). Для экстракции исследуемых веществ из плазмы применяли этилацетат х. ч. (АО "ЭКОС-1", Москва). Хроматографирование проводили с использованием ацетонитрила (сорт 0, ос. ч., ООО "Криохром", Санкт-Петербург) и муравьиной кислоты (98%, Sigma-Aldrich, США). При приготовлении растворов применяли бидистиллированную воду, полученную с помощью системы Fistreem Cyclon 044 (Великобритания) с последующей двойной перегонкой с добавлением серной кислоты х. ч. и перманганата калия х. ч. Для построения градуировочных зависимостей и апробации методики анализа использовали образцы интактной плазмы (химически не обработанной и не содержащей каких-либо посторонних веществ, за исключением антикоагулянтов) крови добровольцев, которые хранили при -32°С.

Аппаратура. Аналитическая система включала в себя комплекс на базе жидкостного хроматографа LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония), автоинжектор SIL-20А, термостат СТО-20А, тандемный масс-спектрометр AB Sciex QTRAP 3200 (AB Sciex, США) с нагреваемым источником электрораспылительной ионизации и хроматографическую колонку Phenomenex Luna C₁₈₍₂₎ (50 × 2 мм, 3 мкм, 100 Å) с предколоночным картриджем (PerfectSil Target ODS-3 HD, 10 × 4.6 мм, 3 мкм). Пробоподготовку образцов проводили с помошью роботизированной системы Microlab STARlet (Hamilton, Швейцария). Для перемешивания проб применяли универсальный пробирочный вортекс MSV-3500 (Biosan, Латвия) с дальнейшим их разделением на фазы преципитата и супернатанта на мультифункциональной центрифуге SL 16R (Thermo Scientific, США). Для сбора и обработки хроматографических данных

использовали программное обеспечение Analyst 1.6.3 и MultiQuant 2.1 соответственно.

Приготовление стандартных растворов. Исходные растворы ДКП (c = 1000 мкг/мл) и ИБП (c = 150 мкг/мл) готовили растворением их точных навесок в заданных объемах смеси CH₃CN-H₂O (1:1, по объему). Далее растворы переносили во флаконы из темного стекла и хранили в холодильных камерах при -32° C и 4°C соответственно. Рабочие растворы ДКП концентрацией 500, 50 и 5 мкг/мл готовили из исходного последовательным разбавлением 50%-ным ацетонитрилом, из которых, в свою очередь, готовили десять градуировочных растворов в диапазоне концентраций 0.2–170.0 мкг/мл. Растворы хранили при 4°C в посуде из темного стекла.

Для характеристики точности анализа готовили несколько растворов контроля качества с высокой (150.0 мкг/мл), средней (15.0 мкг/мл) и низкой (0.6 мкг/мл) концентрациями ДКП, а также растворы для установления нижнего (НПКО) и верхнего (ВПКО) пределов количественного определения — 0.2 мкг/мл и 170.0 мкг/мл соответственно. Концентрация раствора ДКП, применяемого для оценки влияния разбавления, — 300.0 мкг/мл.

Приготовление градуировочных, контрольных, нулевых и холостых образцов в плазме. Перед анализом образцы интактной плазмы размораживали при комнатной температуре, 285 мкл которой затем помещали в пробирки типа Эппендорф емк. 2 мл и добавляли 15 мкл стандартного градуировочного или контрольного раствора ДКП известной концентрации. Для приготовления нулевых (содержат только ВС) и холостых (не содержат аналита и ВС) образцов к плазме добавляли 15 мкл 50%-ного ацетонитрила. Диапазон концентраций ДКП в градуировочных образцах (ГО) – 0.01-8.50 мкг/мл. Концентрации ДКП в образцах контроля качества (ОКК) составляли: высокий ОКК – 7.50 мкг/мл, средний ОКК – 0.75 мкг/мл, низкий OKK – 0.03 мкг/мл; НПКО – 0.01 мкг/мл, ВПКО – 8.50 мкг/мл. Концентрация ДКП в плазме, используемая для оценки влияния разбавления образцов, составляла 15.00 мкг/мл.

Пробоподготовка. В ходе пробоподготовки к градуировочным, контрольным и нулевым образцам в плазме общим объемом 300 мкл добавляли по 100 мкл ВС – ИБП (c = 150 мкг/мл), 100 мкл 0.6 М H₂SO₄ и 800 мкл этилацетата; в пробы холостых образцов вместо ИБП вносили 100 мкл 50%-ного ацетонитрила. Далее смесь перемешивали на вихревом встряхивателе при 2500 об/мин в течение 10 мин и центрифугировали при 10000×g в течение 8 мин. После этого отбирали 500 мкл верхней органической фазы для дальнейшего анализа в описанных ниже условиях.

Валидацию методики осуществляли в соответствии с рекомендациями [19, 20].

Степень извлечения исследуемого вещества из биологической матрицы предварительно оценивали на ГО с концентрациями 0.05, 1.00 и 5.00 мкг/мл. Для этого к 15 мкл соответствующего ГО добавляли 285 мкл бидистиллированной воды (имитирует объем добавляемой плазмы), 100 мкл 0.6 М H₂SO₄, 100 мкл ВС и 800 мкл этилацетата. После тшательного перемешивания и центрифугирования водную и органическую фазы разделяли и поанализировали методом следнюю ВЭЖХ-МС/МС. Среднее содержание аналита в экстракте составило $97.63 \pm 3.86\%$, что свидетельствует о практически полном экстрагировании исследуемого соединения этилацетатом. Поскольку плазма крови человека на 90-92% состоит из воды, то ее замена на соответствующий объем бидистиллированной воды правомерна.

Линейный диапазон методики оценивали в области концентраций аналита от 0.01 до 8.50 мкг/мл. Для этого строили градуировочные кривые в виде зависимости отношения площади пика ДКП к площади пика ИБП от концентрации ГО, которые затем обрабатывали как линейные на основе регрессионного анализа (квадратичная функция с весовым фактором $1/x^2$). Отклонения при открываемости концентраций для не менее чем 75% ГО не должны превышать $\pm 15\%$ от их истинных значений (за исключением образцов НПКО, для которых допускается $\pm 20\%$). При этом зависимости должны характеризоваться значением коэффициента детерминации $R^2 \ge 0.9900$.

Точность и прецизионность методики оценивали путем анализа ОКК на уровне НПКО, низкой, средней и высокой концентраций (по шесть образцов для каждого уровня). Для оценки межсерийной точности анализировали образцы с разными концентрациями ДКП в плазме, приготовленные внутри трех различных циклов; внутрисерийной — в пределах одного цикла в исследуемом градуировочном диапазоне.

Значения точности открываемых концентраций для ОКК не должны выходить за пределы диапазона 85–115% (за исключением образцов НПКО, для которых эти значения могут находиться в пределах 80–120%). Указанному критерию должны соответствовать не менее 67% ОКК и не менее 50% ГО. Величина коэффициента вариации (**KB**) концентраций для ОКК внутри одного цикла и между ними не должна превышать 15%; для НПКО – не более 20%. Для каждой концентрации ОКК рассчитывали средние величины точности всех приемлемых циклов.

Нижний предел количественного определения устанавливали по величине соотношения сигнал/шум для пика ДКП на уровне НПКО путем сравнения среднего отклика аналита в шести обработанных ГО с наименьшей концентрацией и среднего уровня шума на нулевом уровне около времени удерживания ДКП в шести холостых образцах матрицы. Значение НПКО должно соответствовать соотношению сигнал/шум ≥ 10.0 и позволять определять концентрацию стандартного образца аналита с КВ $\leq 20\%$. Причем четыре из шести значений НПКО должны удовлетворять точности 100 $\pm 20\%$ от номинального значения.

Селективность методики оценивали путем сравнения хроматограмм шести холостых образцов интактной плазмы различных добровольцев с образцами, содержащими аналит с концентрацией на уровне НПКО и ВС. Отклик детектора при времени удерживания аналита и ВС должен составлять ≤20% от среднего отклика первого и ≤5% от среднего отклика второго для установленного НПКО в 90% исследуемых биологических матрицах.

Стабильность ДКП в плазме оценивали в рамках аналитического цикла на шести ОКК для высокой и низкой уровней концентраций.

Для исследования стабильности субстанции декскетопрофена трометамола при замораживании и оттаивании свежеприготовленные ОКК помещали в холодильную камеру при –32°С на 12 ч и затем размораживали при комнатной температуре. После полного оттаивания образцы вновь подвергали повторному циклу замораживания—размораживания. Далее проводили их пробоподготовку и анализ в соответствии с описанными в данной работе методиками.

При оценке кратковременной стабильности аналита в матрице ОКК, подвергшиеся пробоподготовке, оставляли в закрытых виалах из бесцветного стекла при комнатной температуре непосредственно в автоинжекторе на сутки (образцы для проверки стабильности). Для определения стабильности при долговременном хранении ОКК помещали в холодильную камеру при –32°С на два месяца (образцы для проверки стабильности). По истечении времени осуществляли их пробоподготовку и хроматографирование с аналогичными свежеприготовленными контрольными образцами (образцы сравнения).

Кратковременную стабильность в 50%-ном растворе ацетонитрила при комнатной температуре оценивали по аналогичному принципу.

Матричный эффект оценивали на свежеприготовленных ОКК с низкой и высокой концентрациями в шести образцах интактной плазмы различных добровольцев. Подготовку и пробоподготовку ОКК проводили в соответствии с ранее описанными способами с тем отличием, что рассчитанные количества аналита и ВС вносили в образцы непосредственно перед анализом после этапа пробоподготовки. При расчетах использовали значения матричного фактора, нормализованного на ВС, согласно формулам:

$$\Phi M = S_m/S_a,$$
$$H\Phi M = \Phi M_a/\Phi M_{BC},$$

где $S_{\rm m}$ — площадь пика аналита или ВС в присутствии биологической матрицы, $S_{\rm a}$ — площадь пика аналита или ВС при ее отсутствии, $\Phi M_{\rm a}$ — фактор матрицы (ΦM) аналита, $\Phi M_{\rm BC}$ — фактор матрицы ВС, Н ΦM — нормализованный по ВС ΦM .

Коэффициенты вариации ФМ не должны превышать 15%.

Оценка матричного эффекта является важным этапом при разработке и валидации биоаналитических методик, поскольку в некоторых случаях может наблюдаться сильное влияние матрицы на сигнал аналита. Возникающая при этом ионная супрессия часто осложняет проведение анализа биообразцов методом ВЭЖХ–МС/МС, приводя к занижению определяемого содержания аналита.

Степень переноса предыдущей пробы оценивали путем анализа холостых образцов после хроматографирования ОКК с высокой концентрацией (ВПКО). Перенос в холостой образец после стандарта с высокой концентрацией не должен превышать 20% от величины НПКО.

Влияние разбавления проб на точность анализа определяли путем предварительного приготовления раствора ДКП с концентрацией выше значения высокого ОКК в два раза (15.00 мкг/мл), 150 мкл которого затем разбавляли 150 мкл интактной плазмы. Далее проводили пробоподготовку и анализ согласно описанной в работе методике.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор внутреннего стандарта. В связи с отсутствием изотопно-меченных стандартов в качестве ВС использовали сертифицированную субстанцию ибупрофена. Данное вещество близко по структуре и химическим свойствам к декскетопрофену и не является эндогенным соединением, что позволяет избежать существенных искажений результатов в ходе анализа. Изучена также возможность применения венлафаксина в роли ВС. Однако по причине невысокой воспроизводимости полученных данных от рассматриваемого варианта пришлось отказаться.

Выбор условий пробоподготовки. Извлечение ДКП и ИБП из плазмы проводили методом ЖЖЭ этилацетатом с добавлением 0.6 М H_2SO_4 . Кроме того, изучали варианты ЖЖЭ с одновременным высаливанием белков плазмы 3 М раствором (NH_4)₂SO₄, а также смесью 3 М раствора (NH_4)₂SO₄ с 0.6 М H_2SO_4 . Удовлетворительные результаты были получены только в первом случае – с добавлением H_2SO_4 .

Учитывая высокую степень связывания аналита и ВС с белками плазмы (99.2% для ДКП [6]), а также то, что оба вещества содержат в своей структуре способную к ионизации карбоксильную группу (схема 1), можно предположить, что роль серной кислоты в процессе пробоподготовки сводится к разрыву указанных связей (белковая составляющая плазмы подвергается денатурации, что способствует более полному осаждению молекул белков и уменьшению тем самым степени их связывания с аналитом и ВС) и переводу веществ в полностью неионизированную форму (без добавления кислоты целевые компоненты могут также находиться в растворе в частично ионизированном состоянии). Указанные факты должны способствовать повышению степени извлечения ДКП и ИБП в ходе экстракции.

Использование концентрированного раствора сульфата аммония в качестве высаливающего агента, с одной стороны, также способствует уменьшению степени связывания целевых компонентов с белками плазмы ввиду осаждения последних, а с другой, — незначительно подкисляет раствор в связи с возможным протеканием процесса гидролиза. Однако более выраженный сигнал аналита, сопоставимый с сигналом в случае применения смеси $(NH_4)_2SO_4$ с H_2SO_4 , наблюдается при добавлении H_2SO_4 , что свидетельствует о значительной роли фактора кислотности в процессе экстрагирования.

Выбор элюента и оптимизация условий ВЭЖХ-МС/МС-анализа. В качестве подвижной фазы рассматривали системы СН₃СN-НСООН (0.1%-ная) и CH₃CN-HCOONH₄ (5 мМ и 10 мМ) с добавлением НСООН и при ее отсутствии. При разработке методики проводили также ряд предварительных испытаний на нескольких обращенно-фазовых хроматографических колонках Phenomenex, Macherey-Nagel и EcoNova C₁₈ (октадецил) одного размера (50 × 2 мм), но отличающихся величиной зернения сорбента (3, 4 и 5 мкм) и размером пор (80 и 100 Å). Наибольшая эффективность разделения, более высокая чувствительность с хорошими формами пиков, а также оптимальная продолжительность анализа с достижением желаемой селективности при минимальном уровне шума наблюдались при использовании смеси (элюент В) и 0.1%-ной НСООН CH₃CN (элюент А) в соотношении 60 : 40 (по объему) в изократическом режиме на аналитической колонке Phenomenex Luna $C_{18(2)}$ (50 × 2 мм, 3 мкм, 100 Å). При этом выбрали следующие условия хроматографирования: объем вводимой аликвоты 2 мкл; скорость потока элюента 0.30 мл/мин; температура колонки 40°С; общая продолжительность анализа 3.5 мин. Среднее время удерживания ДКП и ИБП составило 1.62 ± 0.02 и 2.43 ± 0.03 мин соответственно (рис. 1a, 1б).



Рис. 1. Репрезентативные хроматограммы смеси стандартных образцов декскетопрофена (c = 0.25 мкг/мл, переход m/z 255.2 \rightarrow 105.2) (а) и ибупрофена (c = 37.5 мкг/мл) (б), экстрагированных из плазмы.

Использование смеси CH₃CN-HCOOH (0.1%-ная) в объемном соотношении 80 : 20 также приводит к оптимальным параметрам элюирования; время удерживания ДКП и ИБП при данных условиях – 1.43 ± 0.04 и 1.61 ± 0.03 мин соответственно. Указанный режим изократического элюирования предполагал общую продолжительность анализа 3.0 мин. Однако на этапе хроматографирования экстрактов, полученных из реальных образцов плазмы крови добровольцев, происходит соэлюирование аналита и его метаболита на заданных M3P-переходах (255.2 \rightarrow 105.2, 255.2 \rightarrow 208.8 m/z). В связи с этим выбрали соот-

ношение элюентов В и А 60 : 40 (по объему), что позволило разделить пики метаболита (время удерживания 1.25 ± 0.03) и целевого компонента. Элюирование с применением указанной выше смеси веществ в объемном соотношении 50 : 50 при скорости потока 0.25 мл/мин приводит к увеличению общей продолжительности анализа до 5.0 мин (время удерживания ДКП и ИБП 2.54 ± 0.04 и 4.27 ± 0.03 мин соответственно). При использовании в качестве элюента А формиатного буферного раствора с различной буферной емкостью принципиальных различий по сравнению с 0.1%-ной НСООН не наблюдали. В случае же

растворов HCOONH₄ различной концентрации хроматографический пик аналита имеет выраженный "хвост" и дает менее интенсивный сигнал.

Для обеспечения воспроизводимости результатов и минимизации перекрестного загрязнения образцов иглу автоинжектора промывали до и после ввода пробы смесью $CH_3CN-H_2O(1:1, по объ$ ему). Определение ДКП проводили методом внутренней стандартизации по соотношению площадей хроматографических пиков аналита и BC.

Для идентификации использовали метод масс-спектрометрии в МЗР-режиме (регистрировали положительные ионы) на основе следующих величин $m/z: 255.2 \rightarrow 105.2$ (основной переход, ДКП), $255.2 \rightarrow 208.8$ (подтверждающий переход, ДКП) и 206.8 \rightarrow 161.0 (ИБП). Из масс-спектров соединений (рис. 2а, 2б) видно, что аналит имеет несколько характеристических переходов. Это повышает надежность его определения. Так, пик при величине m/z 255.2 соответствует протонированной молекуле [М-Н]⁺. Наиболее интенсивные фрагментные ионы при m/z 208.8 и 105.2 образуются в результате потери молекул H₂O и CO ионом-прелијественником и при разрыве С-Ссвязи между атомами углерода бензольного кольца и карбонильной группы с образованием положительно заряженного бензоил-иона соответственно. Для ВС: *m/z* 206.8 – родительский ион, а фрагментный ион при *m/z* 161.0 – результат отщепления молекул H₂O и CO. Следует отметить, что оба целевых соединения содержат в своей структуре -СООН-группу, что делает возможным детектирование в режиме отрицательной ионизации.

Поскольку определяемые вещества являются полярными, целесообразно применение электрораспылительной ионизации. В табл. 1 приведены условия MC/MC-детектирования (для ДКП представлены данные по основному переходу), предварительно оптимизированные для обеспечения максимальной чувствительности прибора путем напуска определяемых веществ в камеру источника с использованием шприцевого ввода.

Валидация методики. Согласно требованиям EMA [19] и Государственной фармакопеи РФ XIV издания [20] к основным параметрам биоаналитической методики, подтверждающим эффективность и надежность результатов, относятся: селективность определения, предел обнаружения (ПО) и НПКО, диапазон линейности, точность, прецизионность, стабильность аналита в биологической матрице и в растворе в условиях его хранения и пробоподготовки, степень переноса предыдущей пробы и извлечения аналита из матрицы, а также величина матричного эффекта, оказывающего влияние на степень ионизации и отклик аналита. В этот перечень нами также был добавлен параметр, характеризующий влияние



Рис. 2. Масс-спектры декскетопрофена (а) и ибупрофена (б) с соответствующими схемами фрагментации.

Параметр	Значение параметра			
Параметр	дкп	ИБП		
Потенциал входа, В	1	0		
Потенциал декластеризации, В	4	-1		
Входной потенциал в	16	17		
столкновительную камеру, В				
Выходной потенциал из	4	4		
столкновительной камеры, В				
Энергия столкновения, В	17	13		
Напряжение на капилляре, В	4000			
Температура источника электро- спрея, °С	4:	50		
Расход газа в столкновительной	Средний			
камере – N ₂				
Газ-распылитель – воздух, psi	5	0		
Газовая завеса $-N_2$, psi	25			
Вспомогательный газ – воздух, psi	2	5		

Таблица 1. Условия масс-спектрометрического анализа

разбавления образцов, с целью точного определения концентрации вещества, превышающей диапазон градуировочной зависимости. Экспериментальные данные обрабатывали по результатам трех последовательно проведенных аналитических циклов, состоящих из холостого образца (подвергнутый обработке образец интактной матрицы, не содержащий аналита и ВС), нулевого образца (обработанная интактная матрица, содержащая ВС), десяти ГО, трех ОКК и образцов, соответствующих концентрациям на уровнях НПКО и ВПКО. Все указанные образцы проходили стадию пробоподготовки как единая серия. При этом каждый аналитический цикл сопровождался градуировочной зависимостью в диапазоне рабочих концентраций для подтверждения градуировочного коэффициента и метрологических характеристик методики. Последние, в свою очередь, должны удовлетворять критериям приемлемости (обладать требуемыми точностью и прецизионностью) [19, 20], которые подтверждают пригодность разработанной методики для определения ДКП в плазме крови человека.

Линейный диапазон. Установлено, что открываемые значения концентраций ГО соответствуют приведенным выше критериям в исследуемом диапазоне концентраций. Процент образцов, удовлетворяющих указанным требованиям, – 96.67%. Расчетные концентрации градуировочных стандартов приемлемых аналитических циклов приведены в табл. 2. Величина R^2 составила 0.9974 (усредненное значение для трех аналитических циклов). В качестве примера приводим параметры уравнения градуировочной зависимости для первого аналитического цикла: $y = 1.0177 \times 10^{-8}x^2 +$ $+ 6.8158 \times 10^{-4}x - 4.0033 \times 10^{-4}$ ($R^2 = 0.9961$), где y – отношение площади пика аналита к BC, x – концентрация аналита.

Точность и прецизионность. По результатам анализа внутри- и межсерийная точность находятся в пределах 96.66—100.00% и 94.97—97.92% от номинальных концентраций соответственно; внутри- и межсерийные КВ изменялись соответственно в диапазонах 4.93—9.25% и 4.24—9.57%. Полученные данные удовлетворяют приведенным выше критериям приемлемости: значения

Таблица 2. Результаты оценки градуировочных циклов при определении декскетопрофена трометамола в плазме крови человека

	<i>с</i> × 10 ³ , мкг/мл	№ аналитического цикла							
№ градуировочного уровня		1			2		3		
		<i>с</i> × 10 ³ , мкг/мл	точность, %	<i>с</i> × 10 ³ , мкг/мл	точность, %	<i>с</i> × 10 ³ , мкг/мл	точность, %		
1	10.00	9.43	94.32	10.71	107.07	10.06	100.60		
2	25.00	26.55	106.18	21.74	86.94	25.36	101.43		
3	50.00	59.44	118.89*	45.27	90.54	47.55	95.11		
4	100.00	97.46	97.46	97.86	97.86	98.88	98.88		
5	250.00	236.73	94.69	252.00	100.80	240.57	96.23		
6	500.00	488.30	97.66	526.59	105.32	506.04	101.21		
7	1000.00	980.03	98.00	1100.97	110.10	1027.63	102.76		
8	2500.00	2220.82	88.83	2632.01	105.28	2642.03	105.68		
9	5000.00	5093.70	101.87	4863.76	97.28	4991.95	99.84		
10	8500.00	8682.20	102.14	8396.33	98.78	8352.36	98.26		

* Значение не соответствует критериям приемлемости.

No official	НПКО, c = 0.01 мкг/мл		Низкий ОКК, c = 0.03 мкг/мл		Средний ОКК, <i>c</i> = 0.75 мкг/мл		Высокий ОКК, c = 7.50 мкг/мл	
л≌ ооразца	<i>с</i> × 10 ³ , мкг/мл	точность, %	<i>с</i> × 10 ³ , мкг/мл	точность, %	<i>с</i> × 10 ³ , мкг/мл	точность, %	<i>с</i> × 10 ³ , мкг/мл	точность, %
1	9.30	92.97	32.82	109.38	727.08	96.94	7715.09	102.87
2	8.70	86.97	26.34	87.78	675.67	90.09	6674.30	88.99
3	10.17	101.75	27.39	91.30	737.17	98.29	7080.64	94.41
4	10.75	107.49	31.60	105.32	747.40	99.65	7581.87	101.09
5	8.70	87.04	31.20	103.98	673.99	89.87	7352.51	98.03
6	10.89	108.87	30.66	102.21	788.29	105.10	7616.88	101.56
Среднее	9.75	97.52	30.00	100.00	724.93	96.66	7336.88	97.83
CO*	0.90	_	2.33	_	40.20	_	362.03	_
KB**, %	9.25	_	7.77	—	5.55	—	4.93	—

Таблица 3. Результаты оценки внутрисерийной точности и прецизионности при определении декскетопрофена трометамола в плазме крови человека

* СО – стандартное отклонение, ** КВ – коэффициент вариации.

точности на уровнях НПКО и нижнего, среднего, верхнего диапазонов концентраций не выходят за пределы $100 \pm 20\%$ и $100 \pm 15\%$ соответственно; величины КВ внутри одного цикла и между ними не превышают $\pm 15\%$ для ОКК и $\pm 20\%$ для НПКО. В табл. З для примера приведены экспериментальные данные по оценке внутрисерийной точности и прецизионности одного из аналитических циклов.

Предел обнаружения и нижний предел количественного определения. По результатам анализа среднее соотношение сигнал/шум составило 12.4, а КВ и точность для НПКО в рамках одного цикла – 9.25 и 97.52% соответственно. В данном случае ПО совпадает с НПКО (0.01 мкг/мл) (табл. 4). Репрезентативные хроматограммы холостого образца и образца, содержащего аналит с концентрацией на уровне НПКО, представлены на рис. 3а, 36.

Селективность. Влияние эндогенных компонентов плазмы на площадь пиков ДКП и ИБП нами не выявлено. Отклик детектора при времени удерживания аналита и ВС составлял $\leq 20\%$ от среднего отклика первого и $\leq 5\%$ от среднего отклика второго для установленного НПКО в 90% исследуемых биологических матриц, что соответствует установленным критериям.

Стабильность. По результатам проведенных испытаний ДКП признан нами стабильным как в плазме, так и в водно-ацетонитрильном растворе в исследуемых временных интервалах. После трех циклов замораживания—оттаивания при —32°С изменение значений точности определения концентраций в образцах для проверки стабильности относительно свежеприготовленных низких и высоких ОКК составило 8.70 и 3.29% соответственно. При оценке кратковременной стабильности в плазме и в растворе изменение точности определения концентраций на указанных уровнях составило соответственно 4.35 и 0.80%; 0.82 и 3.12%. В случае оценки долговременной стабильности – 1.53 и 2.50%.

Матричный эффект. Коэффициент вариации фактора матрицы для низкого и высокого ОКК составил 9.30 и 5.45% соответственно, что удовле-

Таблица 4. Результаты оценки нижнего предела количественного определения декскетопрофена трометамола в плазме крови человека (один цикл; номинальная концентрация — 0.01 мкг/мл)

№ образца	<i>с</i> × 10 ³ , мкг/мл	Точность, %	Соотношение сигнал/шум
1	9.30	92.97	11.7
2	8.70	86.97	13.0
3	10.17	101.75	10.0
4	10.75	107.49	13.9
5	8.70	87.04	14.1
6	10.89	108.87	11.7
Среднее	9.75	97.52	12.4
CO*	0.90	—	—
KB**, %	9.25	—	—

* CO – стандартное отклонение, ** KB – коэффициент вариации.



Рис. 3. Репрезентативные хроматограммы холостого образца (а) и стандартного образца декскетопрофена на уровне нижнего предела количественного определения (c = 0.01 мкг/мл, переход m/z 255.2 \rightarrow 105.2) (6).

творяет установленным требованиям. Полученные значения свидетельствуют о незначительном влиянии исследуемой биологической матрицы на отклик аналита.

Степень переноса. Полученные результаты указывают на отсутствие эффекта переноса проб, поскольку в холостых образцах после ОКК с высокой концентрацией отсутствует хроматографический пик с временем удерживания ДКП.

Влияние разбавления. Установлено, что процедура разбавления образцов в два раза существенно не влияет на параметры точности и прецизионности предложенной нами методики. Среднее значение точности составило 88.06%, а изменение — 11.26%.

В табл. 5 обобщены значения валидационных параметров разработанной методики.

Таким образом, в настоящей работе предложена и валидирована ВЭЖХ-МС/МС-методика определения декскетопрофена трометамола в плазме крови человека в диапазоне концентраций 0.01-8.50 мкг/мл с применением ибупрофена в роли внутреннего стандарта. В качестве метода определения целевых соединений выбран МЗРрежим, обеспечивающий достаточную селективность при работе со сложными биологическими матрицами. Разработанная методика, удовлетворяющая требованиям ЕМА [19] и Государственной фармакопеи РФ XIV издания [20], отвечает критериям точности, прецизионности, экспрессности, надежности и чувствительности, а также демонстрирует приемлемую производительность. Оптимизированные условия пробоподготовки по сравнению с имеющимися в литературе на дан-

Параметр	Значение параметра
Селективность матрицы	≤20% отклика НПКО, ≤5% отклика ВС
ПО	0.01 мкг/мл
НПКО	0.01 мкг/мл при соотношении сигнал/шум 12.4
Линейный диапазон	0.01-8.50 мкг/мл
Внутрисерийная точность	96.66—100.00% от номинальных значений
Внутрисерийные коэффициенты вариации	4.93-9.25%
Межсерийная точность	94.97–97.92% от номинальных значений
Межсерийные коэффициенты вариации	4.24-9.57%
Оценка стабильности в матрице при замораживании и оттаивании при –32°C	Среднее изменение точности 8.70 и 3.29%
Оценка долговременной стабильности в матрице при -32°С в течение двух месяцев	Среднее изменение точности 1.53 и 2.50%
Оценка кратковременной стабильности в матрице при комнатной температуре	Среднее изменение точности 4.35 и 0.80%
Оценка кратковременной стабильности в растворе при комнатной температуре	Среднее изменение точности 0.82 и 3.12%
Эффект переноса	≤ 20% величины НПКО
Эффект матрицы	Коэффициенты вариации фактора матрицы 9.30 и 5.45%
Разбавление образцов в два раза	Среднее изменение точности 11.26%

Таблица 5. Валидационные характеристики разработанной методики определения декскетопрофена трометамола в плазме крови человека

ный момент позволяют значительно сократить общую продолжительность анализа. Кроме того, показано, что для образцов с концентрациями, превышающими аналитический диапазон разработанной методики, допустимо использование их разбавления. В ходе выполнения эксперимента особое внимание уделяли оценке матричного эффекта и отсутствию перекрестного загрязнения проб во избежание ошибочных результатов, которое контролировали путем анализа холостого образца после ввода образца контроля качества с максимальной концентрацией. Данная методика успешно апробирована на реальных образцах плазмы крови здоровых добровольцев (мужчин и женщин) в возрасте от 20 до 45 лет при однократном приеме ими генерического препарата дозой 25 мг натощак в рамках клинических исследований, проводимых в соответствии с законами РФ и этическими требованиями.

Работа выполнена в рамках исследования биоэквивалентности новых лекарственных препаратов в интересах АО "Органика" (Россия, Новокузнецк).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. *Khambe G.S., Salunkhe V.R., Korhale R., Jadhav S., Choudhari P., Wagh N., Birdar N.* RP–HPLC method development for dexketoprofen trometamol and paracetamol in pharmaceutical dosage form and its validation including short term stability study // IJIPLS. 2015. V. 5. № 1. P. 279.
- Zippel H., Wagenitz A. Comparison of the efficacy and safety of intravenously administered dexketoprofen trometamol and ketoprofen in the management of pain after orthopaedic surgery // Clin. Drug Invest. 2006. V. 26. № 9. P. 517.

https://doi.org/10.2165/00044011-200626090-00005

- 3. *Каратеев А.Е.* Современные средства эффективного контроля острой боли: декскетопрофен // Трудный пациент. 2015. Т. 13. № 10–11. С. 24.
- Торшин И.Ю., Громова О.А., Федотова Л.Э., Громов А.Н. Сравнительный хемореактомный анализ декскетопрофена, кетопрофена и диклофенака // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2018. Т. 10. № 1. С. 47. https://doi.org/10.14412/2074-2711-2018-1-47-54
- Sweetman B.J. Development and use of the quick acting chiral NSAID dexketoprofen trometamol (Keral) //
- Acute Pain. 2003. V. 4. № 3–4. P. 109. *Walczak J.-S.* Analgesic properties of dexketoprofen trometamol // Pain Manage. 2011. V. 1. № 5. P. 409.
- https://doi.org/10.2217/pmt.11.42
 7. Martínez C., Blanco G., Ladero J.M., García-Martín E., Taxonera C., Gamito F.G., Diaz-Rubio M., Agúndez J.A.G. Genetic predisposition to acute gastrointestinal bleeding after NSAIDs use // Br. J. Pharmacol. 2004. V. 141.

№ 2. P. 205.

https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705623

- Vallés J., Artigas R., Bertolotti M., Crea A., Muller F., Paredes I., Capriati A. Single and repeated dose pharmacokinetics of dexketoprofen trometamol in young and elderly subjects // Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. 2006. V. 28 (Suppl. A). P. 13.
- 9. Archana K., Vikas P. Development and validation of reversed—phase high performance liquid chromatographic method for estimation of dexketoprofen trometamol in bulk and tablet dosage form // AJPCT. 2013. V. 1. № 4. P. 395.
- 10. *Bhusari V.K., Dhaneshwar S.R.* Development of a validated stability-indicating HPLC assay method for dexketoprofen trometamol // Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 2012. V. 4. № 1. P. 321.
- Dhaneshwar S.R., Jagtap V.N. Development and validation of RP-HPLC-PDA method for simultaneous determination of dexketoprofen and thiocolchicoside in pharmaceutical dosage form // J. Pharm. Res. 2013. V. 3. № 6. P. 604.

https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.04.053

- 12. *Krunal P., Dhaval M., Krunal P., Patel J., Shah N.* Development and validation of UV–spectroscopic and RP–HPLC methods for estimation of dexketoprofen trometamol in tablet dosage form // JPSBR. 2011. V. 1. Nº 1. P. 78.
- 13. *Harde M.T., Dharam D.L., Jadhav S.B., Balap A.R.* Development and validation of RP–HPLC method for simultaneous estimation of thiocolchicoside and dexketoprofen in bulk and tablet dosage form // Int. J. PharmTech Res. 2012. V. 4. № 4. P. 1797.

- 14. *Mulla T.S., Rao J.R., Yadav S.S., Bharekar V.V., Rajput M.P.* Development and validation of HPLC method for simultaneous quantitation of paracetamol and dexketoprofen trometamol in bulk drug and formulation // Pharmacie Globale (IJCP). 2011. V. 2. № 7. P. 1.
- Öztürk A.A., Yenilmez E., Yazan Y. Development and validation of high-performance liquid chromatography (HPLC) modified method for dexketoprofen trometamol // Eur. Int. J. Sci. Technol. (EIJST). 2017. V. 6. P. 33.
- Barbanoj M.J., Gich I., Artigas R., Tost D., Moros C., Antonijoan R.M., García M.L., Mauleón D. Pharmacokinetics of dexketoprofen trometamol in healthy volunteers after single and repeated oral doses // J. Clin. Pharmacol. 1999. V. 38. № 12. P. 33S. https://doi.org/10.1002/jcph.1998.38.s1.33
- 17. *Fengci H., Liang C., Desheng M.* Determination of the plasma concentration of dexketoprofen with HPLC in rabbits // China Pharmacy. 2003. V. 12. P. 53.
- Song Y., Jia Y.-Y., Ge J., Lu C.-T., Li X.-Q., Chen M.-C., Ding Y., Wen A.-D. Determination of dexketoprofen in human plasma by LC–MS // Chinese J. New Drugs. 2013. V. 22. № 1. P. 75.
- Guideline on bioanalytical method validation. European Medicines Agency – Committee for Medicinal Products for Human Use. 2011.
- Государственная Фармакопея РФ XIV издания. М.: ФГБУ "Научный центр экспертизы средств медицинского применения" Минздрава России, 2018. http://femb.ru/femb/pharmacopea.php (10.11.2020).

———— ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ ———

УДК 54.061

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СТАНДАРТНОГО ОТКЛОНЕНИЯ ВРЕМЕНИ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО УДЕРЖИВАНИЯ В РЕЖИМЕ ПРОГРАММИРОВАНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ КАПИЛЛЯРНОЙ КОЛОНКИ

© 2021 г. В. И. Абдрахманов^а, С. А. Добротин^b, О. Н. Косырева^{b, *}, В. И. Логутов^{c, **}

^аООО "Ареал Медикал"

ул. Кольская, 1, Москва, 129329 Россия

^bДзержинский филиал Российской академии народного хозяйства и государственной службы при Президенте РФ, факультет управления и экономики

ул. Черняховского, 24, Дзержинск, Нижегородская обл., 606016 Россия

 c Дзержинский филиал Национального исследовательского Нижегородского государственного университета

им. Н.И. Лобачевского

пер. Жуковского, 2, Дзержинск, Нижегородская обл., 606000 Россия

*e-mail: lelia7@list.ru

***e-mail: chromlab@mail.ru* Поступила в редакцию 13.10.2020 г. После доработки 18.11.2020 г. Принята к публикации 23.11.2020 г.

При качественном анализе сложных смесей неизвестного состава перспективным направлением повышения належности илентификации веществ является совместное использование нескольких одновременно определяемых аналитических параметров. Для этой цели используется, например. сочетание хроматографических методов с ИК-Фурье спектроскопией, масс-спектрометрией и другими методами. При решении сложных аналитических задач производственного характера экономически целесообразно применение только хроматографических методов. В этом случае при анализе сложных многокомпонентных смесей с высокой плотностью пиков на хроматограмме прецизионность определения времени удерживания определяет надежность идентификации веществ и результата анализа как при идентификации непосредственно по абсолютному времени удерживания, так и по производным от него относительным параметрам (относительные времена удерживания, индексы удерживания). Мерой прецизионности измерения времени хроматографического удерживания является его стандартное отклонение. Экспериментальные времена хроматографического удерживания получали для случая анализа по следующей схеме: начальная изотерма, программирование температуры, конечная изотерма. Отмечено резкое (на порядок) увеличение численного значения стандартного отклонения на этапе программирования температуры. Получено уравнение регрессии, связывающее точечную оценку стандартного отклонения времени удерживания и температуру колонки. Получена метрологическая характеристика уравнения регрессии в виде функции, позволяющей рассчитать суммарную стандартную неопределенность в оценке стандартного отклонения времени хроматографического удерживания. Полученные результаты можно использовать для уточнения времени и индексов хроматографического удерживания, обеспечивающих достоверную идентификацию веществ.

Ключевые слова: качественный анализ, хроматография, время хроматографического удерживания, прецизионность, стандартное отклонение.

DOI: 10.31857/S0044450221050029

Хроматографический метод контроля состава разнообразных объектов распространен весьма широко. В некоторых областях частота его применения достигает 80% от общего числа методик. Анализируя материалы Питтсбургской конференции по аналитической химии и спектроскопии, Я.И. Яшин показал [1], что хроматография, включая хромато-масс-спектрометрию, лидирует среди всех методов анализа. К преимуществам хроматографического метода относятся высокая степень разделения при малой продолжительности анализа, наличие серийно выпускаемой аппаратуры, наличие большого количества стандартизованных и аттестованных методик.

Основной проблемой анализа сложных многокомпонентных смесей, насчитывающих десятки,

а то и сотни компонентов, является именно идентификация присутствующих в пробе веществ. Перспективным подходом к задаче повышения надежности идентификации веществ является совместное использование нескольких одновременно определяемых аналитических параметров. Для этой цели используют, например, сочетание хроматографических методов с ИК-Фурье спектроскопией [2], масс-спектрометрией [3] и др. База данных Национального института стандартов и технологии США [4] содержит несколько сотен тысяч единиц масс-спектров соединений, дополненных хроматографическими индексами удерживания [3]. Однако при всех вариантах проведения качественного анализа смесей неизвестного состава с использованием хроматографических методов неизменно в качестве одного из аналитических параметров идентификации компонентов смеси используют время хроматографического удерживания (ВХУ) или производные от него показатели.

При решении сложных аналитических задач производственного характера экономически целесообразно применение только хроматографических методов. Следовательно, при использовании высокоэффективных капиллярных колонок для анализа сложных многокомпонентных смесей с высокой плотностью пиков на хроматограмме, когда различие во временах удерживания соседних пиков может составлять лишь несколько секунд, именно прецизионность определения ВХУ определяет надежность идентификации веществ и в конечном итоге результата анализа.

Для конкретных условий анализа и используемой аппаратуры прецизионность ВХУ определяется стабильностью поддержания газового и температурного режима колонки, а также синхронностью моментов времени ввода пробы и старта записи хроматограммы.

Мерой прецизионности измерения любой величины является ее стандартное отклонение (СО). В подавляющем большинстве хроматографических методик показатели прецизионности нормируются только для таких параметров, как площадь или высота пика, определяющих результаты количественного анализа. Верхняя нормируемая граница допускаемого значения относительного стандартного отклонения (ОСО) времени удерживания в изотермическом режиме для аналитических газовых лабораторных хроматографов составляет 1-2% при дозировании пробы вручную и 0.1% при автоматическом дозировании [5, 6]. Для режима программирования температуры колонки такая норма отсутствует. В то же время анализ сложных многокомпонентных смесей реализуется в подавляющем большинстве случаев в режиме программирования температуры. Именно для этого случая актуально оценить уровень преци-

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 5 2021

зионности времени удерживания современных газовых хроматографов. Зная оценку величины СО, можно перейти к неопределенности результата измерения [7], а затем к статистически значимому различию времен удерживания ближайших хроматографических пиков и соответственно к надежности идентификации веществ в пробе. Такой подход был бы полезен при реализации методик, в которых на хроматограмме пики расположены с высокой плотностью, например, ГОСТа [8].

Данное исследование – составная часть работы по изучению состава ветеринарного препарата АСД-2Ф, широко применяемого в ветеринарии уже более 60 лет [9, 10]. Авторы работы [11] с использованием метода хромато-масс-спектрометрии и капиллярных колонок различной полярности доказали наличие в препарате около 150 органических веществ, однако известно, что препарат содержит гораздо больше соединений. В соответствии с существующими представлениями [12] о возможном механизме совместного пиролиза белков и жиров животного происхождения в безвоздушной среде при 200-500°С в АСД-2Ф и подобных ему продуктах могут присутствовать самые разные азотсодержащие соединения, в том числе и дипептиды. Сложность задачи увеличивается из-за недоступности большинства индивидуальных веществ, которые могут входить в состав препарата.

На рис. 1 показан фрагмент хроматограммы пробы препарата АСД-2Ф, иллюстрирующий высокую плотность пиков. Над каждым пиком указаны две цифры: первая — порядковый номер пика, вторая — время хроматографического удерживания.

Цель данного исследования — количественная оценка прецизионности времен хроматографического удерживания в режиме программирования температуры хроматографической колонки, полученных внутри одной лаборатории.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Выполняли качественный анализ двух искусственных смесей. Одна смесь на основе этилового спирта содержала 27 веществ, входящих в состав ветеринарного препарата АСД-2Ф. Для большего увеличения числа пиков различных веществ на протяженности всей хроматограммы в смесь включали некоторые вещества, не входящие в состав АСД-2Ф, но близкие к ним по химическому строению и доступные для приобретения, а именно уротропин и 6-метилурацил. Вторая смесь на основе гексана содержала двадцать *н*-алканов от гептана до гексакозана. Содержание компонентов в обеих смесях подбирали такое, которое исключало бы перегрузку колонки.



Рис. 1. Фрагмент хроматограммы пробы препарата АСД-2Ф.

Исследования проводили на хроматографе Хроматэк-Кристалл-5000.1. Комплектация хроматографа: испаритель капиллярный, детектор пламенно-ионизационный (ПИД) и капиллярная колонка VB-1701 30 м × 0.32 мм × 0.50 µм. Режим работы хроматографа: температура испарителя 250°С, температура ПИД 250°С, начальная температура колонки 120°С, выдержка начальной изотермы 5 мин, скорость подъема температуры колонки 10°С/мин. конечная температура колонки 230°С. В качестве газа-носителя использовали гелий в режиме поддержания постоянного давления перед колонкой 100 кПа, коэффициент деления потока 1/30, режим экономии газа. Газовый режим ПИД: расход водорода 30 мл/мин, расход воздуха 300 мл/мин, поддув инертного газа (гелия) 30 мл/мин. Объем вводимой в испаритель пробы 1 мкл. Пробу вводили вручную. Общая продолжительность – 35 мин.

Время удерживания компонентов определяли в минутах с точностью до четвертого знака после запятой с помощью программного обеспечения, прилагаемого к хроматографу. Использовали программное обеспечение "Хроматэк Аналитик 3.0".

В условиях повторяемости проводили серию из трех анализов в течение одного рабочего дня с интервалом между анализами 60 ± 1 мин. Всего выполнили десять серий анализов каждой смеси в разные дни с разными промежутками между днями проведения анализа, что соответствует условиям внутрилабораторной прецизионности с изменением фактора "время". Полученные экспериментальные данные в форме результатов измерений, сбалансированных по рекомендуемым [13] однородным уровням, приведены в табл. 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Время хроматографического удерживания для каждого компонента, полученное в условиях повторяемости [14], т.е. в одной серии, состоящей из трех анализов, усредняли и находили его выборочное СО. Для каждой серии анализов обнаружена зависимость значения СО от времени, отчетливо проявляющаяся на этапе подъема температуры колонки. Результаты, полученные после усреднения данных по всем сериям, иллюстрирует рис. 2. Оценка СО на участке начальной изотермы составила ~0.001 мин, а на участке конечной изотермы — ~0.01 мин.



Рис. 2. Зависимость стандартного отклонения от времени анализа: *1* – начало работы в режиме программирования температуры, *2* – конец работы в режиме программирования температуры.
Номер серии			Номер н	компоне	нта на эт	апе про	граммиро	ования те	емператур	ы	
измерений	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	5.111	5.403	6.269	6.533	7.173	7.771	8.259	9.362	10.282	12.985	14.205
	5.113	5.403	6.272	6.537	7.175	7.772	8.259	9.373	10.295	13.029	14.263
	5.109	5.399	6.267	6.531	7.175	7.769	8.257	9.369	10.294	13.024	14.249
2	5.109	5.397	6.269	6.531	7.177	7.77	8.256	9.361	10.284	13.011	14.239
	5.109	5.398	6.268	6.532	7.175	7.773	8.258	9.369	10.294	13.019	14.252
	5.109	5.399	6.267	6.529	7.171	7.769	8.256	9.369	10.292	13.018	14.252
3	5.107	5.398	6.267	6.529	7.17	7.761	8.248	9.35	10.269	12.977	14.203
	5.107	5.399	6.268	6.533	7.175	7.771	8.255	9.365	10.293	13.016	14.247
	5.106	5.397	6.267	6.533	7.175	7.772	8.261	9.374	10.301	13.028	14.261
4	5.111	5.397	6.266	6.529	7.171	7.765	8.245	9.35	10.267	12.977	14.201
	5.108	5.394	6.261	6.523	7.159	7.757	8.242	9.353	10.274	12.999	14.229
	5.107	5.393	6.26	6.526	7.166	7.76	8.247	9.356	10.281	13.007	14.242
5	5.108	5.395	6.269	6.529	7.171	7.772	8.261	9.371	10.291	13.012	14.239
	5.11	5.399	6.269	6.535	7.179	7.771	8.258	9.372	10.299	13.037	14.273
	5.106	5.397	6.27	6.532	7.178	7.777	8.265	9.379	10.299	13.017	14.245
6	5.109	5.395	6.265	6.53	7.174	7.781	8.261	9.378	10.313	13.051	14.288
	5.111	5.398	6.269	6.53	7.175	7.778	8.257	9.371	10.293	13.018	14.242
	5.111	5.395	6.267	6.532	7.178	7.787	8.261	9.377	10.309	13.05	14.287
7	5.115	5.399	6.265	6.527	7.167	7.77	8.249	9.357	10.278	13.001	14.223
	5.11	5.395	6.269	6.533	7.179	7.787	8.264	9.384	10.312	13.045	14.273
	5.111	5.396	6.267	6.531	7.178	7.784	8.259	9.377	10.308	13.047	14.284
8	5.111	5.393	6.261	6.527	7.169	7.776	8.249	9.366	10.294	13.018	14.246
	5.109	5.394	6.265	6.529	7.173	7.777	8.251	9.365	10.29	13.023	14.248
	5.111	5.394	6.262	6.526	7.169	7.775	8.249	9.365	10.295	13.025	14.252
9	5.112	5.3953	6.2673	6.5287	7.1753	7.78	8.2587	9.3753	10.3053	13.0467	14.2773
	5.1113	5.3967	6.2627	6.523	7.1627	7.7667	8.236	9.3487	10.272	12.998	14.232
	5.1127	5.394	6.2693	6.5327	7.1733	7.782	8.258	9.3727	10.2993	13.032	14.2613
10	5.1093	5.3887	6.262	6.5253	7.1667	7.7753	8.2507	9.3693	10.2993	13.028	14.262
	5.11	5.3913	6.2647	6.5253	7.17	7.7773	8.2547	9.3687	10.3013	13.0267	14.2593
	5.1107	5.3913	6.2613	6.5213	7.1627	7.7713	8.246	9.36	10.29	13.0193	14.2467

Таблица 1. Результаты (мин) измерений времени хроматографического удерживания

Выборочное уравнение линейной регрессии на участке программирования температуры, параметрически идентифицируемое по методу наименьших квадратов, имеет вид:

$$\hat{\sigma} = 2.283 \times 10^{-3} \tau - 1.073 \times 10^{-2}$$
,

где $\hat{\sigma}$ — оценка условного математического ожидания стандартного отклонения времени хроматографического удерживания, мин; τ — текущее время анализа, мин.

Для установления зависимости CO от температуры колонки учитывали, что температура начальной изотермы составляла 120°C, температура конечной изотермы 230°C, подъем температуры осуществлялся линейно со скоростью 10°C/мин.

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 5 2021

В результате аналогичная регрессионная зависимость, связывающая температуру колонки и СО времени хроматографического удерживания, имеет вид:

$$\hat{\sigma} = 2.284 \times 10^{-4} t - 2.673 \times 10^{-2}$$
,

где t – температура колонки, °С.

Основной метрологической характеристикой уравнения регрессии [15] применительно к данной задаче является СО суммарной погрешности (суммарной стандартной неопределенности) однократного измерения выходной величины *y*, в качестве которой выступает СО времени хроматографического удерживания. Входной величиной *x* является время хроматографического удер-

живания. В дальнейшем приняты следующие обозначения:

$$\begin{cases} x = \tau \\ y = s(x) \end{cases}$$

Значения выходной координаты у рассчитывали по формуле:

$$y_{ij} = \sqrt{\frac{\sum_{\ell=1}^{k} \left(x_{ij\ell} - \overline{x}_{ij}\right)^2}{k-1}},$$

где $x_{ij\ell}$ — время хроматографического удерживания *j*-го компонента в ℓ -ом анализе *i*-ой серии; \overline{x}_{ij} — среднее время хроматографического удерживания *j*-го компонента в *i*-ой серии; *k* — число анализов в одной серии.

$$\overline{x}_{ij} = \frac{\sum_{\ell=1}^{k} x_{ij\ell}}{k}.$$

Исходные данные для этого расчета представлены в табл. 1. Полученные значения выходной координаты у представлены в табл. 2.

Применяемые для расчета неопределенности уравнения регрессии формулы зависят от следующих условий: 1) наличие или отсутствие корреляции между погрешностями определения входной величины; 2) наличие или отсутствие равноточности измерений при определении входной величины.

Погрешность определения любой физической величины определяется композицией случайных и систематических погрешностей [16]. В случае прямых измерений в нормальных условиях систематическая погрешность определяется только основной погрешностью средства измерений [17]. Для данного аппаратно-программного хроматографического комплекса возможно задание предела прецизионности определения времени хроматографического удерживания вплоть до 1 × 10⁻⁴ мин и менее. При этом минимальное значение СО этого показателя составляет порядка 0.001 мин, т.е. на порядок больше, вследствие чего систематической погрешностью можно пренебречь. Таким образом, для оценки наличия корреляции между погрешностями определения времени хроматографического удерживания достаточно оценить корреляцию между СО времен хроматографического удерживания отдельных компонентов.

По набору данных, представленных в табл. 2, столбцы которой интерпретировали как значения случайных величин, коэффициенты корреляции рассчитывали по формуле:

$$r_{uv} = \frac{\sum_{i=1}^{m} (y_{iu} - \overline{y}_{u})(y_{iv} - \overline{y}_{v})}{\sqrt{\sum_{i=1}^{m} (y_{iu} - \overline{y}_{u})^{2} \sum_{i=1}^{m} (y_{iv} - \overline{y}_{v})^{2}}},$$

где u и v — номера компонентов, для которых оценивается корреляция; m — количество серий анализов.

Среднее значение выходной координаты, усредненное по всем сериям анализов для *j*-ого компонента, составило

$$\overline{y}_j = \frac{\sum_{i=1}^m y_{ij}}{m}.$$

Результаты расчета коэффициентов корреляции приведены в табл. 3.

Правильность гипотезы о значимости коэффициента корреляции оценивали по критерию Стьюдента. Коэффициент корреляции считали значимым при выполнении условия:

$$t \geq t_{\rm kp}(\alpha, f)$$

где *t* и $t_{\rm kp}$ – соответственно наблюдаемое и критическое значения критерия Стьюдента, α – уровень значимости, *f* – число степеней свободы:

$$f = n - 2$$

где *n* — количество компонентов хроматограммы на участке программирования температуры.

Наблюдаемое значение критерия Стьюдента

$$t = \frac{r_{uv}\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r_{uv}^2}}.$$

Если в последнюю формулу подставить вместо наблюдаемого значения критерия Стьюдента критическое и разрешить ее относительно коэффициента корреляции, то получим его минимальное значение, при котором наличие корреляции будет оцениваться положительно.

Для доверительной вероятности p = 0.95 и n = 11при двусторонней альтернативной гипотезе критическое значение $t_{\rm kp}(0.05, 9) = 2.26$ [14]. Тогда минимальное значение $r_{\rm dv}^{\rm min} = 0.60$. Соответственно этому значению ситуацию наличия или отсутствия корреляции между СО времени хроматографического удерживания отдельных компонентов иллюстрирует табл. 4. "Да" означает наличие корреляции в строке табл. 4, "нет" – ее отсутствие. Подсчет относительной частоты наличия корреляции между отдельными компонентами (рис. 3) показал, что в 80% случаев СО времен хроматографического удерживания соседних пиков коррелируют между собой. Таким образом, в целом корреляция между погрешностями определения входной величины имеет место.

Таблица 2.	Результаты р	DACHETOB BBIXC	лдной коорди	инаты у _{ij} (стаі	ндартное отк	лонение врем	лени хроматс	графическог	о удерживан	(ви	
Номер				Номер комі	тонента на эт	гапе програм	мирования т	емпературы			
измерений	0	-	5		4	5	6	L	∞	6	10
-	2×10^{-3}	3 2.309 × 10 ⁻³	2.517×10^{-3}	3.055×10^{-3}	1.155×10^{-3}	1.528×10^{-3}	1.155×10^{-3}	5.568×10^{-3}	7.234×10^{-3}	2.409×10^{-2}	3.027×10^{-2}
7	0	1.000×10^{-3}	10×10^{-4}	1.528×10^{-3}	3.055×10^{-3}	2.082×10^{-3}	1.155×10^{-3}	4.619×10^{-3}	5.292×10^{-3}	4.359×10^{-3}	7.506×10^{-3}
б	5.744×10^{-4}	⁴ 10 × 10 ⁻⁴	5.774×10^{-4}	2.309×10^{-3}	2.887×10^{-3}	6.083×10^{-3}	6.506×10^{-3}	1.212×10^{-2}	1.665×10^{-2}	2.666×10^{-2}	3.027×10^{-2}
4	2.082×10^{-3}	32.082×10^{-3}	3.215×10^{-3}	3×10^{-3}	6.028×10^{-3}	4.041×10^{-3}	2.517×10^{-3}	3×10^{-3}	7×10^{-3}	1.553×10^{-2}	2.095×10^{-2}
Ś	2×10^{-3}	$3 2 \times 10^{-3}$	5.774×10^{-4}	3×10^{-3}	4.359×10^{-3}	3.215×10^{-3}	3.512×10^{-3}	4.359×10^{-3}	4.619×10^{-3}	1.323×10^{-2}	1.815×10^{-2}
9	1.155×10^{-3}	3 1.732 × 10 ⁻³	2×10^{-3}	1.155×10^{-3}	2.082×10^{-3}	4.583×10^{-3}	2.309×10^{-3}	3.786×10^{-3}	1.058×10^{-3}	1.877×10^{-2}	2.627×10^{-3}
Ľ	2.646×10^{-3}	32.082×10^{-3}	2×10^{-3}	3.055×10^{-3}	6.658×10^{-3}	9.074×10^{-3}	7.638×10^{-3}	1.401×10^{-2}	1.858×10^{-2}	2.6×10^{-2}	3.251×10^{-2}
∞	1.155×10^{-3}	35.774×10^{-4}	2.082×10^{-3}	1.528×10^{-3}	2.309×10^{-3}	10×10^{-4}	1.155×10^{-3}	5.774×10^{-4}	2.646×10^{-3}	3.606×10^{-3}	3.055×10^{-3}
6	7×10^{-4}	1.35×10^{-3}	3.384×10^{-3}	4.717×10^{-3}	6.772×10^{-3}	8.316×10^{-3}	1.291×10^{-2}	1.466×10^{-2}	1.775×10^{-2}	2.498×10^{-2}	2.297×10^{-2}
10	7×10^{-4}	4 1.501 × 10 ⁻³	1.795×10^{-3}	2.309×10^{-3}	3.656×10^{-3}	3.055×10^{-3}	4.355×10^{-3}	$5.205 imes 10^{-3}$	6.03×10^{-3}	4.693×10^{-3}	8.166×10^{-3}

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СТАНДАРТНОГО ОТКЛОНЕНИЯ ВРЕМЕНИ

459

OB	
Ĕ	
eF	
НО	
Ē	
No No	
X	
ЦI	
Ĥ	
Ba	
Б	
Řd	
ſe]	
Ż	
2	
ē	
č	
Че	
И	
ф	
ğ	
Ю	
aT	
Z	
g	
X	
H	
ž	
e e	
B	
ЦI	
È	
<u>fe</u>	
10	
5	
Ē	
00	
Ĕ	
H	
E	
a	
Ē	
Ia	
5	
Ш	
Ê	
Ы	
õ	
pp	
9	
Ä	
ē	
bH	
Ia	
Ţ	
ō	
ίĦ	
ē	
ЯH	
R	
Ы	
E	
<u> </u>	
1eF	
циен	
рициен	
ффициен	
эффициен	
соэффициен	
. Коэффициен	
13. Коэффициен	
ца 3. Коэффициен	
тица 3. Коэффициен	
блица 3. Коэффициен	

	10	0.49	0.604	0.13	0.397	0.183	0.624	0.383	0.617	0.733	0.96	-
	6	0.38	0.449	0.216	0.546	0.27	0.709	0.57	0.745	0.828	1	0.96
	∞	7.897×10^{-2}	0.109	0.162	0.485	0.504	0.941	0.823	0.94	1	0.828	0.733
емпературы	7	1.958×10^{-2}	8.087×10^{-2}	8.08×10^{-2}	0.63	0.552	0.89	0.888	1	0.94	0.745	0.617
иммирования т	9	-5.657×10^{-2}	-2.2×10^{-2}	0.271	0.744	0.702	0.869	1	0.888	0.823	0.57	0.383
ле програ	5	0.186	0.18	0.206	0.55	0.735	1	0.869	0.89	0.941	0.709	0.624
нта на эта	4	0.3	0.233	0.38	0.681	1	0.735	0.702	0.552	0.504	0.27	0.183
компоне	c,	0.304	0.391	0.49	1	0.681	0.55	0.744	0.63	0.485	0.546	0.397
Номер	2	0.259	0.275	1	0.49	0.38	0.206	0.271	8.08×10^{-2}	0.162	0.216	0.13
	-	0.771	1	0.275	0.391	0.233	0.18	-2.2×10^{-2}	8.087×10^{-2}	0.109	0.449	0.604
	0	-	0.771	0.259	0.304	0.3	0.186	-5.657×10^{-2}	1.958×10^{-2}	7.897×10^{-2}	0.38	0.49
Номер компонента на этапе	программирования температуры	0	1	2	ç	4	N.	9	7	œ	6	10

460

АБДРАХМАНОВ и др.

Номер компонента Номер компонента на этапе программирования температуры на этапе программирования 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 температуры 0 1 Дa Нет Нет Нет Нет Нет Нет Нет Нет Нет 1 Дa 1 Нет Нет Нет Нет Нет Нет Нет Нет Дa 2 Нет Нет Нет Нет 1 Нет Нет Нет Нет Нет Нет 3 Нет Нет Нет 1 Ла Нет Ла Лa Нет Нет Нет 4 Нет Нет Нет Ла Ла Нет Нет Нет Нет 1 Дa 5 Нет Нет Нет Нет Ла 1 Ла Дa Дa Лa Дa 6 Нет Нет Нет Дa Дa Дa Дa Дa Нет Нет 1 7 Нет Нет Нет Нет Дa 1 Дa Дa Дa Дa Дa 8 Нет Нет Нет Нет Нет Дa Дa Дa 1 Дa Дa 9 Нет Нет Нет Нет Нет Лa Нет Лa Лa 1 Лa 10 Нет Дa Нет Нет Нет Ла Нет Ла Ла Ла 1

Таблица 4. Оценка наличия корреляции стандартного отклонения времен хроматографического удерживания компонентов

Равноточность измерений при определении входной величины оценивали путем проверки однородности дисперсий входной величины отдельного компонента по всем сериям измерений.

Дисперсия ВХУ *j*-го компонента по всем сериям измерений составляет:

$$s^{2}(x_{j}) = \frac{\sum_{i=1}^{m} \sum_{\ell=1}^{k} (x_{ji\ell} - \overline{x}_{j})^{2}}{mk - 1}.$$

Среднее значение ВХУ *j*-го компонента в серии по всем сериям измерений:



Результаты расчетов приведены в табл. 5.

Гипотеза об однородности дисперсий принимается при выполнении условия:

$$G \leq G_{\kappa p}(\alpha, f_1, n),$$

где G и $G_{\rm kp}$ — соответственно наблюдаемое и критическое значения критерия Кохрена, f_1 — число степеней свободы отдельной дисперсии, n — количество суммируемых дисперсий, равное количеству компонентов:

$$f_1 = mk - 1, \quad G = \frac{s_{\max}^2}{\sum_{j=1}^n s^2(x_j)},$$



Рис. 3. Данные о наличии корреляций между стандартным отклонением времен хроматографического удерживания отдельных компонентов.

	Таблица 5. Р	езультаты изм	аерений и ра	счетов в отде	льных точка	tx 1-10						
	Обозначениє параметра	0	1	2	3	4	5	6	7	8	6	10
				Время	хроматограф	ического уде	рживания (в	ходная вели	нина)			
	\overline{x}_{j} , мин	5.110	5.396	6.266	6.529	7.172	7.773	8.254	9.367	10.292	13.019	14.249
		_	_	_		СО входной	величины	-	_	_	_	
	$s(x_j)$	2.091×10^{-3}	3.189×10^{-3}	3.145×10^{-3}	3.685×10^{-3}	5.131×10^{-3}	7.286×10^{-3}	6.894×10^{-3}	9.229×10^{-3}	1.222×10^{-2}	1.967×10^{-2}	2.273×10^{-2}
	$s\left(\overline{x_j} ight)$	3.817×10^{-4}	5.821×10^{-4}	5.743×10^{-4}	6.728×10^{-4}	9.367×10^{-4}	1.330×10^{-3}	1.259×10^{-3}	1.685×10^{-3}	2.230×10^{-3}	3.597×10^{-3}	4.150×10^{-3}
		_	_	СО времен	и хроматогр	афического у	держивания	выходная в	еличина)	_	_	
	<i>У_{ij}</i> , МИН	2×10^{-3}	2.309×10^{-3}	2.517×10^{-3}	3.055×10^{-3}	1.155×10^{-3}	1.528×10^{-3}	1.155×10^{-3}	5.568×10^{-3}	7.234×10^{-3}	2.409×10^{-2}	3.027×10^{-2}
2		0	1.000×10^{-3}	10×10^{-4}	1.528×10^{-3}	3.055×10^{-3}	2.082×10^{-3}	1.155×10^{-3}	4.619×10^{-3}	5.292×10^{-3}	4.359×10^{-3}	7.506×10^{-3}
ЖУР		5.744×10^{-4}	10×10^{-4}	5.774×10^{-4}	2.309×10^{-3}	2.887×10^{-3}	6.083×10^{-3}	6.506×10^{-3}	1.212×10^{-2}	1.665×10^{-2}	2.666×10^{-2}	3.027×10^{-2}
НАЛ		2.082×10^{-3}	2.082×10^{-3}	3.215×10^{-3}	3×10^{-3}	6.028×10^{-3}	4.041×10^{-3}	2.517×10^{-3}	3×10^{-3}	7×10^{-3}	1.553×10^{-2}	2.095×10^{-2}
AHA		2×10^{-3}	2×10^{-3}	5.774×10^{-4}	3×10^{-3}	4.359×10^{-3}	3.215×10^{-3}	3.512×10^{-3}	4.359×10^{-3}	4.619×10^{-3}	1323×10^{-2}	1.815×10^{-2}
лит		1.155×10^{-3}	1.732×10^{-3}	2×10^{-3}	1.155×10^{-3}	2.082×10^{-3}	4.583×10^{-3}	2.309×10^{-3}	3.786×10^{-3}	1.058×10^{-3}	1.877×10^{-2}	2.627×10^{-3}
ГИЧІ		2.646×10^{-3}	2.082×10^{-3}	2×10^{-3}	3.055×10^{-3}	6.658×10^{-3}	9.074×10^{-3}	7.638×10^{-3}	1.401×10^{-2}	1.858×10^{-2}	2.6×10^{-2}	3.251×10^{-2}
ECK		1.155×10^{-3}	5.774×10^{-4}	2.082×10^{-3}	1.528×10^{-3}	2.309×10^{-3}	10×10^{-4}	1.155×10^{-3}	5.774×10^{-4}	2.646×10^{-3}	3.606×10^{-3}	3.055×10^{-3}
ОЙ Х		7×10^{-4}	1.35×10^{-3}	3.384×10^{-3}	4.717×10^{-3}	6.772×10^{-3}	8.316×10^{-3}	1.291×10^{-2}	1.466×10^{-2}	1.775×10^{-2}	2.498×10^{-2}	2.297×10^{-2}
ими		7×10^{-4}	1.501×10^{-3}	1.795×10^{-3}	2.309×10^{-3}	3.656×10^{-3}	3.055×10^{-3}	4.355×10^{-3}	5.205×10^{-3}	6.03×10^{-3}	4.693×10^{-3}	8.166×10^{-3}
1И		-	_	- 0	реднее знач	ение выходно	ой величины	в <i>і</i> -ой точке	-	-	_	
том	$\overline{\mathcal{Y}}_{j}$	1.301×10^{-3}	1.563×10^{-3}	1.915×10^{-3}	2.566×10^{-3}	3.896×10^{-3}	4.298×10^{-3}	4.321×10^{-3}	6.791×10^{-3}	9.639×10^{-3}	1.619×10^{-2}	2.001×10^{-2}
76		-	_	СО ед	иничного из	змерения вых	содной велич	ины в <i>і</i> -ой т	эчке	-	-	
Nº 5	$s(y_j)$	8.417×10^{-4}	5.744×10^{-4}	9.822×10^{-4}	1.042×10^{-3}	1.933×10^{-3}	2.758×10^{-3}	3.765×10^{-3}	4.936×10^{-3}	5.913×10^{-3}	9.381×10^{-3}	1.056×10^{-2}
20		- · ·		CO	среднего зна	ачения выход	(ной величи	ны в <i>і</i> -ой точі	çe			
)21	$s\left(\overline{\mathcal{Y}_{j}} ight)$	2.662×10^{-4}	1.816×10^{-4}	3.106×10^{-4}	3.294×10^{-4}	6.304×10^{-4}	8.722×10^{-4}	1.190×10^{-3}	1.561×10^{-3}	1.870×10^{-3}	2.966×10^{-3}	3.339×10^{-3}

462

АБДРАХМАНОВ и др.

где *s*²_{max} – максимальная из сравниваемых дисперсий.

По результатам расчетов получено, что G = 0.397; при этом критическое значение $G_{\rm kp}(0.05, 29, 11) = 0.165$ [18, с. 469].

Таким образом, неопределенность уравнения регрессии необходимо рассчитывать для случая

наличия корреляции между погрешностями определения входной величины и отсутствия равноточности измерений при определении входной величины.

В данном случае суммарная стандартная неопределенность однократного измерения выходной величины у определяется по формуле [15]:

$$u_{\Sigma}(y|x) = s_{\Sigma}(y|x) = \sqrt{\left(\frac{1}{n} + \frac{(x - \overline{x})^{2}}{\sum_{j=1}^{n} (\overline{x}_{j} - \overline{x})^{2}}\right)} s^{2}(\overline{y}) + b^{2} \left(\frac{\left(\sum_{i=1}^{n} s(x_{j})\right)^{2}}{n^{2}} + \frac{(x - \overline{x})^{2} \left(\sum_{i=1}^{n} s(x_{j})(\overline{x}_{j} - \overline{x})\right)^{2}}{\left(\sum_{i=1}^{n} (\overline{x}_{j} - \overline{x})^{2}\right)^{2}}\right)}, \quad (1)$$

где $u_{\Sigma}(y|x)$ – суммарная стандартная неопределенность однократного измерения выходной величины *у* в точке *x*; $s_{\Sigma}(y|x) - \text{CO}$ суммарной погрешности однократного измерения выходной величины у в точке х; n – количество условных средних, используемых для оценки неопределенности уравнения регрессии, равное количеству компонентов хроматограммы на участке программирования температуры; *х* – входная координата уравнения регрессии (время хроматографического удерживания); \bar{x}_{i} – среднее значение входной координаты в *j*-ой точке уравнения регрессии; $s(x_i)$ – СО значения входной координаты в *j*-ой точке; $\overline{\overline{x}}$ – общее среднее значение входной координаты; у – выходная координата уравнения регрессии (СО времени хроматографического удерживания): $s^2(\overline{v})$ – дисперсия общего среднего значения выходной координаты; b – коэффициент регрессии.

Дисперсия общего среднего значения выходной величины:

$$s^{2}(\overline{y}) = \frac{\sum_{j=1}^{n} s^{2}(\overline{y}_{j})}{n},$$

где $s^2(\bar{y}_j)$ — дисперсия среднего значения выходной координаты в *j*-ой точке уравнения регрессии:

$$s^2\left(\overline{y}_j\right) = \frac{s^2\left(y_j\right)}{m},$$

где $s^2(y_j)$ — дисперсия выходной координаты в*j*-ой точке уравнения регрессии:

$$s^{2}(y_{j}) = \frac{\sum_{i=1}^{m} (y_{ij} - \overline{y}_{j})^{2}}{m-1}$$

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 5 2021

Промежуточные результаты расчетов представлены в табл. 6. Используя их, нетрудно определить порядки величин, входящих в уравнение (1):

$$\frac{1}{n} \approx 10^{-1}, \ s^2(\overline{y}) \approx 10^{-6}, \ b \approx 10^{-3}, \ \sum_{i=1}^n s(x_i) \approx 10^{-1}.$$

Тогда

$$\frac{s^2(\overline{y})}{n} \approx 10^{-7}, \quad b^2 \frac{\left(\sum_{i=1}^n s(x_i)\right)^2}{n^2} \approx 10^{-10}$$

Таким образом,

$$\frac{s^2(\overline{y})}{n} \gg b^2 \frac{\left(\sum_{i=1}^n s(x_i)\right)^2}{n^2}.$$

Аналогично

$$\sum_{j=1}^{n} \left(\overline{x}_{j} - \overline{\overline{x}}\right)^{2} \approx 10^{2}, \quad \sum_{i=1}^{n} s(x_{j}) \left(\overline{x}_{j} - \overline{\overline{x}}\right) \approx 10^{-1}.$$

Тогда

$$\frac{s^{2}(\overline{y})}{\sum_{j=1}^{n} (\overline{x}_{j} - \overline{\overline{x}})^{2}} \approx 10^{-8}, \quad \frac{b^{2} \left(\sum_{i=1}^{n} s(x_{j})(\overline{x}_{j} - \overline{\overline{x}})\right)^{2}}{\left(\sum_{i=1}^{n} (\overline{x}_{j} - \overline{\overline{x}})^{2}\right)^{2}} \approx 10^{-12}.$$

Таким образом,

$$\frac{s^{2}(\overline{y})}{\sum_{j=1}^{n}(\overline{x}_{j}-\overline{x})^{2}} \gg \frac{b^{2}\left(\sum_{i=1}^{n}s(x_{j})(\overline{x}_{j}-\overline{x})\right)^{2}}{\left(\sum_{i=1}^{n}(\overline{x}_{j}-\overline{\overline{x}})^{2}\right)^{2}}.$$

j	$\overline{x_j}$	$\overline{x_j} - \overline{\overline{x}}$	$\left(\overline{x_j} - \overline{\overline{x}}\right)^2$	$s(x_j)$	$s(x_j)(\overline{x_j}-\overline{\overline{x}})$	$s^2\left(\overline{y_j}\right)$
0	5.110	-3.384	11.450	2.091×10^{-3}	-7.075×10^{-3}	7.085×10^{-8}
1	5.396	-3.097	9.454	3.189×10^{-3}	-9.876×10^{-3}	3.299×10^{-8}
2	6.266	-2.227	4.961	3.145×10^{-3}	-7.006×10^{-3}	9.647×10^{-8}
3	6.529	-1.964	3.858	3.685×10^{-3}	-7.238×10^{-3}	1.085×10^{-7}
4	7.172	-1.322	1.746	5.131×10^{-3}	-6.780×10^{-3}	3974×10^{-7}
5	7.773	-0.720	0.519	7.286×10^{-3}	-5.248×10^{-3}	7.608×10^{-7}
6	8.254	-0.239	5.723×10^{-2}	6.894×10^{-3}	-1.649×10^{-3}	1.417×10^{-6}
7	9.367	0.873	0.763	9.229×10^{-3}	8.060×10^{-3}	2.436×10^{-6}
8	10.292	1.799	3.236	1.222×10^{-2}	2.198×10^{-2}	3.496×10^{-6}
9	13.019	4.526	20.484	1.967×10^{-2}	8.902×10^{-2}	8.800×10^{-6}
10	14.249	5.756	33.129	2.273×10^{-2}	0.131	1.115×10^{-5}
Σ	93.430	_	89.797	9.527×10^{-2}	0.205	2.876×10^{-5}
Среднее значение	8.494	_	_	_	_	2.615×10^{-6}

Таблица 6. Промежуточные результаты расчетов

Из полученных неравенств следует, что вторым слагаемым в формуле (1) можно пренебречь, и данная формула примет вид:

$$s_{\Sigma}(y|x) = s(\overline{y}) \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(x - \overline{\overline{x}})^2}{\sum_{i=1}^n (\overline{x}_i - \overline{\overline{x}})^2}}.$$

После подстановки числовых данных в итоге получена следующая функция, описывающая



Рис. 4. Соответствие расчетных и экспериментальных данных по стандартному отклонению на этапе программирования температуры.

оценку СО суммарной погрешности (суммарной стандартной неопределенности) уравнения регрессии:

$$s_{\Sigma}(y|x) = 1.707 \times 10^{-4} \times \sqrt{8.161 + (x - 8.494)^2}.$$

Результирующий график, на котором изображены экспериментальные данные, кривая регрессии и доверительные интервалы, приведен на рис. 4. Коэффициент охвата при переходе к рас-



Рис. 5. Оценка относительного стандартного отклонения.

ширенной неопределенности принят равным двум [15].

Поскольку в хроматографии для характеристики прецизионности широко применяется относительное CO, те же зависимости приведены и для этого параметра (рис. 5). Как видно, в режиме программирования температуры хроматографической колонки ОСО ВХУ не превышает 0.2%.

* * *

Таким образом, для случая внутрилабораторной прецизионности с изменением фактора "время" на примере газового хроматографа Хроматэк-Кристалл-5000.1 установлено следующее: 1) при дозировании пробы вручную в режиме одноступенчатого программирования температуры колонки фактически достижимая величина ОСО ВХУ не превышает 0.2 отн. %, что существенно увеличивает надежность идентификации компонентов пробы по сравнению с заявленной в описании типа средства измерения для изотермического режима; 2) стандартное отклонение времени хроматографического удерживания зависит от температуры хроматографической колонки и в режиме программирования температуры его значение существенно увеличивается; 3) полученная функциональная метрологическая характеристика уравнения регрессии позволяет рассчитать суммарную стандартную неопределенность в оценке стандартного отклонения времени хроматографического удерживания. Полученные результаты могут быть использованы для расчета доверительного интервала времени хроматографического удерживания, обеспечивающего достоверную идентификацию веществ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Яшин Я.И., Яшин А.Я. Основные тенденции развития хроматографии после 110-летия со дня ее открытия М.С. Цветом // Сорбционные и хроматографические процессы. 2014. Т. 14. № 2. С. 203.
- Крылов А.И. Разработка и совершенствование методов идентификации и определения органических аналитов в пробах неизвестного состава. Автореф. дис. ... докт. хим. наук. Всероссийский научно-исследовательский институт им. Д.И. Менделеева (ВНИИМ). 2012. 37 с. https://disser.spbu.ru/disser/%7Bzashiti_disser__id%7D/avtoref-Krilov.pdf) (10.11.2020).
- 3. Зенкевич И.Г., Елисеенков Е.В., Касаточкин А.Н. Идентификация продуктов органических реакций при отсутствии аддитивности хроматографических индексов удерживания. Хлорпроизводные метилтрет-бутилкетона // Журн. структ. химии. 2013. Т. 54. № 3. С. 453. (Zenkevich I.G., Eliseenkov E.V., Kasatochkin A.N. Identification of organic reaction products in the absence of additivity of chromatographic retention indices. Chlorinated derivatives of methyl tret-bu-

tyl ketone // J. Struct. Chem. 2013. V. 54. № 3. P. 453 (Russ.).)

- База данных Национального института стандартов и технологии США. The NIST 20 Mass Spectral Library & Search Software (NIST 2020/2017/EPA/NIH) https://www.sisweb.com/software/ms/nist.htm (20.11.2020).
- 5. Описание типа средства измерений. Комплексы хроматографические газовые "Хромос ГХ-1000". Приложение к свидетельству № 53504 об утверждении типа средств измерений. http://ndgsi.ru/grsi/210xx/21064-13.pdf (03.09.2020).
- 6. Описание типа средства измерений. Комплексы аппаратно-программные для медицинских исследований на базе хроматографа "Хроматэк Кристалл 5000". Приложение к свидетельству № 55590 об утверждении типа средств измерений. https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/372060 (03.09.2020).
- Рекомендации по межгосударственной стандартизации РМГ 61-2010. ГСОЕИ. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. М.: Стандартинформ, 2012. 59 с. http:// docs.cntd.ru/document/1200094703 (03.09.2020).
- ГОСТ 31754-2012 Масла растительные, жиры животные и продукты их переработки. Методы определения массовой доли трансизомеров жирных кислот. М.: Стандартинформ, 2014. 32 с. http://docs.cntd.ru/document/1200100241 (03.09.2020).
- 9. *Николаев А.В.* О химическом составе и новых фракциях препарата АСД // Труды ВИЭВ. 1959. Т. 22. С. 317.)
- Абрамов В.Е., Абдрахманов В.И., Дорогова О.А., Кирюткин Г.В., Краснов В.Л. Определение показателей качества препарата АСД-2 // Ветеринария. 2004. № 9. С. 13
- Абдрахманов В.И., Краснов В.Л., Логутов В.И., Орлов А.В., Сахипов В.Р. Исследование химического состава субстанции АСД-2Ф хроматографическими методами // Международный журн. прикладных и фундаментальных исследований. 2019. № 6. С. 168.
- Васина Я.А., Смельцова И.Л., Фаерман В.И., Яблоков В.А. Продукты твёрдофазного термического превращения L-α-аминокислот в вакуумированной системе // Universum: Химия и биология: электрон. науч. журн. 2016. № 11(29). http://7universum.com/ru/nature/archive/item/3827 (03.09.2020).
- ГОСТ Р ИСО 5725-2-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений. http://docs.cntd.ru/document/ 1200029976 (03.09.2020).
- 14. ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения. http://docs.cntd.ru/document/1200029975 (03.09.2020).
- 15. Р 50.2.028-2003 Рекомендации по метрологии. ГСОЕИ. Алгоритмы построения градуировочных характеристик средств измерений состава веществ

и материалов и оценивание их погрешностей (неопределенностей). Оценивание погрешности (неопределенности) линейных градуировочных характеристик при использовании метода наименьших квадратов. М.: Издательство стандартов, 2003. 7 с. http://docs.cntd.ru/document/1200032032 (03. 09.2020).

16. ГОСТ Р 8.736-2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Измерения прямые многократные. Методы обработки результатов измерений. Основные положения. М.: Стандартинформ, 2019. 21 с. http://docs.cntd.ru/document/ 1200089016 (03.09.2020).

- РМГ 29-2013 Рекомендации по межгосударственной стандартизации. Государственная система обеспечения единства измерений. Метрология. Основные термины и определения. М.: Стандартинформ, 2014. 121 с. http://docs.cntd.ru/document/ 1200115154 (03.09.2020).
- Гмурман В.Е. Теория вероятностей и математическая статистика: Учебное пособие для вузов. М.: Высшая школа, 2003. 479 с.

УДК 543.553.4

АМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЕ ТИРОЗИНАЗНЫЕ БИОСЕНСОРЫ, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ НАНОМАТЕРИАЛАМИ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ, ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДИКЛОФЕНАКА

© 2021 г. Р. М. Бейлинсон^{*a*}, А. А. Явишева^{*a*}, Э. П. Медянцева^{*a*}, *, Г. К. Будников^{*a*}

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

> *e-mail: emedyant@gmail.com Поступила в редакцию 19.03.2020 г. После доработки 30.10.2020 г. Принята к публикации 11.12.2020 г.

Разработаны амперометрические биосенсоры для определения диклофенака на основе планарных платиновых электродов, модифицированных углеродными нанотрубками в хитозане, фуллереном C_{60} в Boltorn H20, наночастицами золота в хитозане, и иммобилизованного фермента тирозиназы. Установлено, что диклофенак является обратимым ингибитором тирозиназы, что позволяет определять его с помощью соответствующих биосенсоров, модифицированных наноматериалами, в диапазоне концентраций от 10 пМ до 1 мкМ с $c_{\rm H}$ 5 пМ. Кинетические исследования реакции ферментативного превращения фенола показали, что в присутствии диклофенака на тирозиназном биосенсоре наблюдается неконкурентное ингибирование. Апробированы методики определения диклофенака с помощью предлагаемых биосенсоров в коровьем молоке.

Ключевые слова: тирозиназный биосенсор, диклофенак, углеродные нанотрубки, фуллерен C₆₀, наночастицы золота.

DOI: 10.31857/S0044450221050078

В настоящее время нестероидные противовоспалительные лекарственные препараты (НПВП) часто применяют в качестве анальгезирующих и противовоспалительных средств при воспалительных заболеваниях опорно-двигательного аппарата. Препараты данного класса обладают большим спектром побочных действий, которые по статистике проявляются у 10% больных. Пострадать от приема НПВП могут самые разнообразные органы и системы: пищеварительная, центральная и периферическая нервная система, органы кровообразования, мочеполовая система. Нестероидные противовоспалительные препараты используются в ветеринарии для лечения крупного рогатого скота и, следовательно, могут содержаться в молочной продукции. По этой причине содержание НПВП в пищевых продуктах следует строго контролировать.

Один из часто применяемых препаратов этого класса — диклофенак (натриевая соль 2-(2,6-дихлорфениламино)фенилуксусной кислоты) (схема 1) [1]. Диклофенак обладает выраженным обезболивающим, противовоспалительным и средним жаропонижающим эффектом [2].



Схема 1. Структурная формула диклофенака.

Разработаны хроматографические [3, 4], оптические [5, 6], электрохимические методы [7, 8] и биосенсорные устройства [9, 10] для обнаружения диклофенака. Несмотря на многообразие имеющихся методов, поиск новых простых, экспрессных, экономичных способов определения лекарственных препаратов по-прежнему актуален.

Один из современных подходов к определению лекарственных соединений, выявлению фальсифицированной продукции заключается в использовании биосенсоров, обеспечивающих требуемую чувствительность и, в отдельных случаях, селективность определений. В этом плане определенные преимущества (доступность биологического материала, низкая стоимость и т.д.) могут иметь биосенсоры на основе тканей растений и животных.

Современный подход к созданию новых и совершенствованию существующих амперометрических биосенсоров связан с использованием разнообразных способов модификации поверхности первичных преобразователей для придания им определенных свойств. Применение наноматериалов, например углеродных нанотрубок (**УНТ**), обладающих исключительными электронными свойствами, перспективно для разработки миниатюрных биосенсорных устройств [11].

Фуллерен представляет собой наноразмерные полициклические структуры сферической формы, состоящие из атомов углерода, связанных в пяти- и шестичленные циклы. Фуллерены выделяются среди модификаторов высокой химической устойчивостью и могут рассматриваться как перспективные материалы для увеличения аналитического сигнала в биосенсорах [12].

Модификация наночастицами золота (**H**Ч Au) приводит к улучшению физических, электрохимических свойств поверхности электродов, их высокой проводимости [13]. Использование наночастиц металлов и углеродного наноматериала дает возможность контролировать плотность заряда, что позволяет напрямую воздействовать на чувствительность сенсора и сохранять его высокую электроактивность. Этот подход перспективен для улучшения характеристик поверхности используемых первичных преобразователей. Особый интерес представляет создание амперометрических биосенсоров на основе сочетания свойств наноматериалов и иммобилизованных ферментов для определения диклофенака.

Цель настоящей работы — разработка амперометрических биосенсоров на основе платиновых планарных электродов, модифицированных УНТ, фуллереном C_{60} , НЧ Аu, и иммобилизованного фермента тирозиназы для определения диклофенака, оценка их аналитических возможностей, сравнение результатов анализа, полученных на немодифицированных и модифицированных сенсорах, а также использование полученных результатов для контроля содержания диклофенака в пищевых (в частности, молочных) продуктах.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы и аппаратура. В качестве основы разрабатываемых биосенсоров выбрана планарная система, состоящая из рабочего электрода, электрода сравнения и вспомогательного электрода (BVT Technologies, Брно, Чехия).

Рабочий электрод, на которой иммобилизовали фермент, изготовлен из платиносодержащей пасты. Вспомогательный электрод также изготовлен из платины. Электродом сравнения служил "псевдохлоридсеребряный" электрод, представляющий собой серебряную проволоку в 0.1 М растворе KCl. Рабочая ячейка системы имеет объем 250 мкл. Измерения на описанных выше электродах проводили с помощью многоцелевого электрохимического детектора "MEB" с компьютеризированным управлением [14]. Для приготовления суспензии УНТ, фуллерена С₆₀, НЧ Аи использовали ультразвуковую ванну (Wise-Clean модель WUC–A03H, DAIHAN Scientific-Co. Ltd., Корея), частота 40 кГц.

Фенол марки х. ч. использовали в качестве субстрата. Его растворы готовили по точной навеске. В качестве растворителя применяли рабочий буферный раствор с рН 7.6. Срок хранения указанного раствора не превышал трех часов.

В качестве матричного материала для иммобилизации ферментов на платиновые электроды использовали аминопроизводные на платформе ГРПО Boltorn H20-NH₂, которые были получены на кафедре неорганической химии КФУ (Казань, Россия).

Использовали 1%-ный раствор глутарового альдегида (ICN, США) и бычий сывороточный альбумин (Reanal, Венгрия). Для получения HЧ Au использовали цитрат натрия x. ч., HCl x. ч., HAuCl₄ · 4H₂O x. ч., SnCl₂ ч., полиэтиленгликоль (PEG-3000) (Sigma-Aldrich, США).

В качестве модификаторов поверхности электродов применяли фуллерен C_{60} , функционализированный гидроксильными группами (Sigma-Aldrich, США), УНТ со следующими геометрическими параметрами: внешний диаметр 10–15 нм, внутренний диаметр 2–6 нм, длина 0.1–10 мкм (Sigma-Aldrich, США).

Использовали хроматографически чистый препарат диклофенак (Sigma-Aldrich, США). Применяли фосфатный буферный раствор (рН 7.60 \pm 0.05). Значения рН водных растворов определяли рН-метром рН-150 со стеклянным электродом, градуированным по стандартным буферным растворам.

Подготовка углеродных нанотрубок для модификации электродов. Перед модификацией поверхности электродов смешивали УНТ с 0.5%ным (по массе) раствором хитозана в 0.05 М уксусной кислоте. Солюбилизацию этой смеси проводили в ультразвуковой ванне при комнатной температуре до получения однородного раствора. Концентрация дисперсии УНТ составила 1 мг/мл. Для поддержания однородности используемых для модификации растворов УНТ периодически (не менее раза в месяц) обрабатывали их ультразвуком.

Получение тирозиназы из гомогената грибов. 10 г мелконарезанного и предварительно замороженного растительного материала (грибов шампиньонов Agaricus bisporus) доводили до пастообразной текстуры в вымороженной ступке. После этого к гомогенату прибавляли 10 мл фосфатного буферного раствора с рН 7.6 и перемешивали магнитной мешалкой. Отделяли жидкую фракцию фильтрованием через двойной марлевый слой. Фильтрат является прямым источником тирозиназы [15].

Для определения каталитической активности тирозиназы использовали смесь, содержащую фосфатный буфер с pH 7.0, раствор фенола с концентрацией 1 мМ и аликвоту гомогената тирозиназы [16, 17].

Оптическую плотность измеряли при 280 нм в течение примерно 20 мин. Единицу активности фермента определяли как увеличение оптической плотности при 280 нм за определенное время при данных условиях опыта. По спектрофотометрическим данным каталитическая активность тирозиназы составила 165 ± 8 U/ml для образцов из грибов.

Получение биочувствительной части амперометрического тирозиназного биосенсора на основе печатного платинового электрода. Биочувствительной частью биосенсоров являлась иммобилизованная на поверхности рабочего электрода тирозиназа, полученная из грибов. Для ее получения готовили смесь, состоящую из раствора фермента, дистиллированной воды, фосфатного буферного раствора с pH 7.5, раствора Boltorn H20 и 1%-ного раствора глутарового альдегида. Последний компонент прибавляли в последнюю очередь. Смесь интенсивно перемешивали, после чего на поверхность электродов наносили по 1 мкл этой смеси. Полученные данным образом биосенсоры помещали на ночь в закрытую чашку Петри при +4°С. Через 12 ч биосенсоры промывали водой и высушивали. В дальнейшем их хранили в холодильнике при +4°С.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ литературы показал, что на сегодняшний день отсутствуют амперометрические тирозиназные биосенсоры для определения диклофенака в пищевых продуктах. Фермент тирозиназа может оказаться весьма эффективным для определения возможных эффекторов этого фермента различной природы, учитывая доступные и простые методы получения ферментного препарата из плодовых тел грибов *Agaricus bisporus*. Вследствие этого для создания новых амперометрических биосенсоров для определения диклофенака применяли иммобилизованную тирозиназу, полученную указанным выше способом.

Известно [16], что при действии фермента тирозиназы фенол подвергается биокаталитическому окислению, в ходе которого образуется хинон по схеме 2:

Ферментативная реакция:



Электрохимическая реакция:



Схема 2. Биокаталитическое и электрохимическое окисление фенола.

В области потенциалов 0.65—0.70 В на циклической вольтамперограмме, полученной с помощью тирозиназного биосенсора, наблюдается дополнительный пик, который относится к окислению пероксида водорода (рис. 1). В соответствии с данными [17] электрохимическое окисление пероксида водорода протекает по схеме:

$$H_2O_2 \xrightarrow{0.7 \text{ B}} O_2 + 2H^+ + 2e.$$

Пик при потенциале 0.20 В обусловлен, вероятно, электрохимическим окислением фенола до хинона.

При использовании в качестве среды фосфатного буферного раствора с рН 7.60 ± 0.05 [18] каталитическая активность фермента максимальна, поэтому в дальнейшем этот буферный раствор применяли в качестве фонового электролита для выполнения измерений на тирозиназном биосенсоре. Используемая концентрация фенола – субстрата тирозиназы 1 мМ.

Действие диклофенака на каталитическую активность иммобилизованной тирозиназы. Исследование действия диклофенака на иммобилизованную тирозиназу в составе биочувствительной части амперометрического биосенсора показало, что величина аналитического сигнала уменьшается в диапазоне концентраций 1-1000 нМ. Таким образом, впервые сделан вывод о том, что диклофенак является ингибитором ферментативного превращения фенола (рис. 2). Линейная зависимость отношения токов от логарифма концентрации описывается уравнением: $I^* = (-13 \pm$ \pm 6) + (8.5 \pm 0.8)(-lg*c*), где $I^* = I_p/I_o \times 100 (I_p - ток в присутствии ингибитора, <math>I_o - ток в$ отсутствие ингибитора). Разработанный тирозиназный биосенсор позволяет определять концентрации диклофенака от $c_{\rm H}$ до 0.8 нМ.

Максимальная степень ингибирования составляет для диклофенака в изученной области концентраций при действии на фермент-субстратную систему тирозиназа-фенол 61 ± 1%.

Кинетические параметры реакции ферментативного превращения фенола в присутствии диклофенака. Для выявления закономерностей действия



Рис. 1. Циклическая вольтамперограмма продуктов реакции ферментативного превращения фенола в присутствии тирозиназного биосенсора. Концентрация фенола 1 мМ, фоновый электролит – фосфатный буферный раствор с pH 7.6.

определяемого эффектора на иммобилизованную тирозиназу необходимо исследовать кинетические параметры ферментативной реакции (скорость ферментативной реакции, константы Михаэлиса). Кроме того, информацию о характеристических кинетических параметрах и типе ингибирования можно применить для подбора условий, гарантирующих предельный аналитический сигнал при определении малых количеств эффекторов.

Для определения кинетических характеристик, таких как максимальная скорость ингибирования $V_{\rm max}$, константа ингибирования $K_{\rm I}$ и кажущаяся константа Михаэлиса $K_{\rm m \, каж}$, применяли интегральный анализ полной кинетической кривой действия иммобилизованной тирозиназы на фенол в присутствии и в отсутствие эффекторов



Рис. 2. Вольтамперограммы окисления хинона и пероксида водорода на тирозиназном биосенсоре в отсутствие диклофенака (I) и в присутствии 1 мкМ диклофенака (2); фосфатного буферного раствора с pH 7.6 (3).

этого фермента [19]. Для определения скорости реакций использовали начальный участок этой кривой.

Результаты кинетического исследования изменения каталитической активности иммобилизованного фермента, входящего в состав тирозиназного биосенсора, при разном содержании диклофенака показали, что имеет место неконкурентный тип ингибирования (табл. 1). Можно предположить, что причиной ингибирования является взаимодействие молекул диклофенака с липофильными участками, находящимися непосредственно у активного центра фермента, в периферийном фрагменте молекулы, вследствие чего образуются стерические препятствия для подхода молекул субстрата к каталитическим сайтам фермента.

Влияние наноструктурированных материалов на аналитические характеристики разрабатываемых биосенсоров. Углеродные нанотрубки – одни из наиболее популярных модификаторов поверхности электродов на сегодняшний день. Значительно реже для модификации применяют фуллерены и их производные. В то же время актуальна проблема как поддержки, так и направленного изменения основных свойств наноуглеродных материалов, входящих в состав сенсоров. Например, при использовании разных стабилизирующих веществ или их сочетаний в составе модификаторов образуются устойчивые дисперсии, сохраняется наноразмерность материалов, что и оказывает положительное влияние на свойства биосенсоров [20].

Для нанесения модификаторов на поверхность планарных электродов применяли метод капельного испарения дисперсии фуллерена в Boltorn H20, УНТ в хитозане или НЧ Аи в хитозане. Далее на уже модифицированной поверхности рабочего электрода иммобилизовали раствор тирозиназы.

с фенола — У I					
Концентрация диклофенака, нМ	<i>K</i> _m × 10 ⁴ , моль∕л	V _{max} , моль/(л с)	Соотношение параметров $K_{\rm m}$ и $V_{\rm max}$	Тип ингибирования	K_{I} , моль $^{-1}$
0 10	6.9 ± 0.3 7.3 ± 0.3	$(1.1 \pm 0.2) \times 10^{-9}$ $(2.0 \pm 0.2) \times 10^{-11}$	$K'_{\rm m} \approx K_{\rm m}$ $V'_{\rm max} \leq V_{\rm max}$	Неконкурентное ингибирование	$(2.0 \pm 0.5) \times 10^{-9}$
			- max - max		

Таблица 1. Кинетические параметры реакции тирозиназного превращения фенола в присутствии диклофенака ($c_{\text{фенола}} = 1 \text{ MM}, \text{ pH 7.0}, n = 3$)

Особый интерес представляло изучение морфологии поверхности рабочих электродов, модифицированных наноматериалами различной природы. Исследование распределения фуллерена C_{60} на поверхности электрода методом атомносиловой микроскопии продемонстрировало более однородную поверхность с меньшей шероховатостью по сравнению с поверхностью электрода, модифицированного УНТ (рис. 3, 4). Ниже приведены характеристики детализации структуры поверхности электрода, модифицированного углеродными наноматериалами (S_z – шероховатость поверхности (десять точек по высоте), d – преимущественный размер наноматериалов):

Наноматериал	$S_{\rm z}$, нм	<i>d</i> , нм
УНТ	19 ± 1	14 ± 2
C ₆₀ -H20-NH ₂	16 ± 1	39 ± 3

Тирозиназный биосенсор, модифицированный углеродными нанотрубками, фуллереном C₆₀ в Boltorn-H20, для определения диклофенака. Предварительные эксперименты показали, что аналитические возможности биосенсоров изменяются при модификации поверхности рабочего электрода.

Исследование влияния диклофенака на иммобилизованную тирозиназу в составе биочувствительной части биосенсора на основе планарных платиновых электродов, модифицированных УНТ или фуллереном C_{60} , показало, что характер его действия не изменился: диклофенак так же ингибирует активность тирозиназы в том же концентрационном диапазоне. Однако модификация поверхности электрода позволила улучшить ряд его аналитических характеристик: увеличить степень ингибирования, повысить коэффициент чувствительности и улучшить коэффициент корреляции (табл. 2).

Наночастицы золота как модификаторы поверхности печатных электродов. В последнее время приобрел популярность прием модификации поверхности электродов наночастицами металлов. Особенно зарекомендовали себя наночастицы золота. Использование нанокомпозитов фуллерен $C_{60}/HЧ$ металла или УНТ/НЧ металла — один из современных подходов в биосенсорных технологиях, позволяющий варьировать свойства и улучшать аналитические характеристики биосенсоров.

Синтез НЧ Аи в настоящей работе осуществляли путем восстановления золотохлористоводородной кислоты хлоридом олова(II) [21]. Для по-



Рис. 3. Изображения в режиме топографии в 2D (а) и 3D (б) проекциях поверхности электрода, модифицированного углеродными нанотрубками в хитозане, размер 2×2 мкм.

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 5 2021



Рис. 4. Изображения в режиме топографии в 2D (а) и 3D (б) проекциях поверхности электрода, модифицированного фуллереном C_{60} в Boltorn H20-NH₂, размер 2.0 × 2.0 мкм.

лучения дисперсий наночастиц использовали растворы $SnCl_2$ (9500 мг/л), полиэтиленгликоля (10 мг/л) и HAuCl₄ (1 × 10⁻⁴ мг/л). Стабилизатором выступал хитозан (0.75 мг/л). Для получения суспензии HЧ Au смесь помещали в ультразвуковую ванну для диспергирования на 1 ч. Далее эту суспензию наносили на поверхность рабочего электрода и высушивали в течение суток.

Подтверждением присутствия в растворах НЧ Аи конкретного размера служат соответствующие оптические спектры. На оптическом спектре выделяются плазмонные полосы поглощения с максимумом при 580 нм, характерным для поглощения НЧ Аи сферической формы, что соответствует размеру наночастиц ~50 нм.

Влияние модификации поверхности электродов нанокомпозитами УНТ/НЧ Au, фуллереном C_{60} /НЧ Au на аналитические характеристики тирозиназного биосенсора. Исследование влияния диклофенака на модифицированный УНТ, фуллереном C_{60} и НЧ Au тирозиназный биосенсор показало, что диклофенак оказывает ингибирующее действие на тирозиназу в области концентраций 0.01—1000 нМ в случае УНТ/НЧ Au и 0.1—1000 нМ в случае фуллерен С₆₀/НЧ Au (табл. 3). Использование нанокомпозитных модификаторов позволило почти на порядок уменьшить $c_{\rm H}$ и улучшить коэффициент корреляции.

Правильность определения диклофенака в указанных диапазонах концентраций с помощью тирозиназного биосенсора оценивали способом введено—найдено (табл. 4). Максимальная степень ингибирования при действии на фермент-субстратную систему тирозиназа—фенол составила 77% (УНТ/НЧ Au) и 66% (фуллерен C_{60} /НЧ Au) в изученной области концентраций, что больше, чем для немодифицированного биосенсора (см. табл. 3).

В целом следует отметить, что модификация композитами УНТ/НЧ Au и фуллерен C_{60} /НЧ Au позволила улучшить аналитические характеристики разрабатываемых биосенсоров, в частности, расширить диапазон определяемых концентраций и снизить $c_{\rm H}$ по сравнению с немодифицированным аналогом.

Таблица 2. Аналитические возможности определения диклофенака тирозиназными биосенсорами, модифицированными углеродными нанотрубками и фуллереном C₆₀

Модификатор поверхности	Область рабочих концентраций нМ	Градуи <i>I</i> *	ровочная фун = $A + B(-lgc)$	кция	с _н , чМ	Максимальная степень
электрода	концентрации, ши	А	В	R	nivi	ингибирования %
УНТ	1-1000	-16 ± 5	8.8 ± 0.6	0.9905	0.5	62 ± 1
Фуллерен С ₆₀	1 - 1000	-18 ± 4	9.0 ± 0.5	0.9937	0.2	63 ± 1

 $*I = I_p/I_0 \times 100$, где I_p – ток в присутствии ингибитора, I_0 – ток в отсутствие ингибитора.

Модификатор поверхности	Область рабочих концентраций нМ	Градуи <i>I</i> *	провочная фун $A = A + B(-\lg c)$	кция	с _н , пМ	Максимальная степень
электрода	концентрации, ни	А	В	R		ингибирования, %
Фуллерен С ₆₀ /НЧ Аи	0.1-1000	-32 ± 4	10.8 ± 0.4	0.9951	60	66 ± 1
УНТ/НЧ Аи	0.01-1000	-62 ± 3	14.0 ± 0.3	0.9983	9	77 ± 1

Таблица 3. Аналитические характеристики определения диклофенака с помощью тирозиназного биосенсора, модифицированного углеродными нанотрубками, фуллереном C_{60} и наночастицами Au (n = 5, P = 0.95)

* $I = I_p / I_o \times 100$, где $I_p -$ ток в присутствии ингибитора, $I_o -$ ток в отсутствие ингибитора.

Таблица 4. Результаты определения диклофенака с помощью тирозиназного биосенсора, модифицированного углеродными нанотрубками, фуллереном C_{60} и наночастицами Au (n = 5, P = 0.95)

Модификатор поверхности электрода	Введено	Найдено	s _r	Процент открытия, %
_	40 нМ	40 ± 3 нМ	0.069	98-113
УНТ	50 мкМ	50 ± 3 мкМ	0.059	96-108
Фуллерен С ₆₀	3 мкМ	2.9 ± 0.2 мкМ	0.063	93-103
УНТ/НЧ Аи	0.7 нМ	0.72 ± 0.05 нM	0.070	96-110
Фуллерен С ₆₀ /НЧ Аи	6 нМ	5.7 ± 0.4 нМ	0.070	88-102

Определение диклофенака в молоке. Нестероидный противовоспалительный препарат диклофенак оказывает сильное анальгезирующее и противовоспалительное действие и используется в ветеринарии для лечения крупного рогатого скота и, следовательно, может содержаться в молочной продукции. Содержание этого препарата строго регламентируется нормативными документами Европейского Союза, согласно которым ПДК диклофенака в молоке составляет 0.1 мкг/л.

Пробоподготовка образцов молока (1.5% жирности) для анализа заключалась в разбавлении в 10 раз боратным буферным раствором. Этого достаточно для уменьшения влияния матричных компонентов.

Установлено, что зависимость величины аналитического сигнала от концентрации диклофенака на фоне молока в случае амперометрического тирозиназного биосенсора, модифицированного УНТ/НЧ Аи, линейна в той же области концентраций, что и на фоне буферного раствора. Следовательно, можно использовать любой из полученных ранее градуировочных графиков (табл. 3) для определения остаточных количеств лекарственных препаратов в образцах молока.

В образцах молока 1.5%-ной жирности разных производителей ("Каждый день", ОАО "МК Сарапул-молоко", Сарапул; "Очень важная корова", ОА "Зеленодольский молочноперерабатывающий комбинат", Зеленодольск) диклофенак не обнаружен.

Для оценки правильности полученных с помощью разработанных биосенсоров результатов определения диклофенака использовали метод поляризации флуоресценции, вариант конкурентного иммуноанализа на основе ПФИА (поляризационный флуоресцентный иммунный анализ) [22]. При этом не требовалась какая-либо сложная предварительная пробоподготовка. Линейный диапазон определяемых концентраций диклофенака составил от 2.2 до 255 мкг/л с процентом открытия от 32 до 196%. Продолжительность анализа варьировалась от 20 до 30 мин.

Данная методика с оптимизированными условиями (разведение антител и трейсера, способ пробоподготовки) апробирована в анализе образцов молока. Предварительные исследования показали, что для получения более воспроизводимых и точных результатов необходимо построение градуировочной зависимости концентрации диклофенака от поляризации флуоресценции на фоне молока.

Правильность определения диклофенака с помощью разработанных методик оценивали способом введено—найдено (табл. 5). Погрешность определения (s_r) не превышает 0.072. Полученные результаты сопоставимы (равноточны) с данными метода ПФИА и вклад систематической погрешности незначим (табл. 5).

Аналогичные по назначению иммуносенсоры позволяют в отдельных случаях определять более низкие концентрации диклофенака (предел обнаружения на уровне 10 фМ), однако речь идет об определении лекарственного препарата в более узком диапазоне концентраций и в более простом объекте (вода) [9]. Аптасенсоры работают в дру-

Таблица 5. Результаты (мг/мл) определения содержания диклофенака в образцах молока тирозиназным биосенсором, модифицированным УНТ/НЧ Аu, и методом поляризационного флуоресцентного иммунного анализа (введено 8×10^{-7} мг/мл диклофенака, n = 5, P = 0.95, $t_{\text{табл}} = 2.31$, $F_{\text{табл}} = 6.39$)

Способ определения	Найдено	s _r
Тирозиназный биосенсор	$(8.3 \pm 0.6) \times 10^{-7}$	0.072
ПФИА	$(7.6 \pm 0.5) \times 10^{-7}$	0.066

Примечание. $t_{\text{pacy}} = 2.1, F_{\text{pacy}} = 1.5.$

гом диапазоне концентраций (до 1–5 мкМ) [10]. Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что разработанный тирозиназный биосенсор, модифицированный УНТ/НЧ Аи, по своим аналитическим возможностям не уступает известным аналогам, а в некоторых случаях даже превосходит их и может быть использован для контроля качества молока.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. *Eteya M.M., Rounaghi G.H., Deiminiat B.* Fabrication of a new electrochemical sensor based on Au–Pt bime-tallic nanoparticles decorated multi-walled carbon nanotubes for determination of diclofenac // Micro-chem. J. 2019. V. 144. P. 254.
- 2. *Buer J.K.* Origins and impact of the term 'NSAID' // Inflammopharmacology. 2014. V. 22. № 5. P. 263.
- Suenami K., Wah L.L., Toyohide T., Suenami L. L., Sasajima Y., Sato K., Takekoshi Y., Kanno S. Rapid and simultaneous determination of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in human plasma by LC–MS with solidphase extraction // Anal. Bioanal. Chem. 2006. V. 384. № 7–8. P. 1501.
- 4. *Igualada C., Moragues F, Pitarch J.* Rapid method for the determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in animal tissue by liquid choromatography–mass spectrometry with ion-trap detector // Anal. Chim. Acta. 2007. V. 586. № 1–2. P. 432.
- Jaenicke E., Decker H. Tyrosinases from crustaceans form hexamers // J. Biochem. 2003. V. 371. P. 515.
- 6. *Tubino M. Souza R.L.* Determination of diclofenac in pharmaceutical preparations by diffuse reflectance photometry // Talanta. 2006. V. 68. P. 776.
- Oliveira M.C., Bindewald E.H., Marcolino L.H., Jr., Bergamini M.F. Potentiometric determination of diclofenac using an ion-selective electrode prepared from polypyrrole films // J. Electroanal. Chem. 2014. V. 732. P. 11.
- 8. *Yilmaz B., Ciltas U.* Determination of diclofenac in pharmaceutical preparations by voltammetry and gas chromatography methods // J. Pharm. Anal. 2015. V. 5. № 3. P. 153.

- Nguyena T.T.K., Vub T.T., Anquetina G., Tran H. Enzyme-less electrochemical displacement heterogeneous immunosensor for diclofenac detection // Biosens. Bioelectron. 2017. V. 97. P. 246.
- Kashefi-Kheyrabadi L., Mehrgardi M.A. Design and construction of a label free aptasensor for electrochemical detection of sodium diclofenac // Biosens. Bioelectron. 2012. V. 1. P. 184.
- 11. Штыков С.Н. Проблемы аналитической химии. М.: Наука, 2015. Т. 20. 431 с.
- Yates C.R., Hayes W. Synthesis and applications of hyperbranched polymers // Eur. Polym. J. 2004. V. 40. P. 1257.
- Tarozaitė R., Juškėnas R., Kurtinaitienė M., Jagminienė A., Vaskelis A. Gold colloids obtained by Au(III) reduction with Sn(II): Preparation and characterization // Chemija. 2006. V. 17. № 2–3. P. 1.
- 14. Варламова Р.М., Медянцева Э.П., Хамидуллина Р.Р., Будников Г.К. Определение патулина амперометрическими тирозиназными биосенсорами на основе электродов, модифицированных углеродными нанотрубками и наночастицами золота // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2016. Т. 158. кн. 3. С. 351.
- Amjad A., Suhail A., Qayyum H. Simultaneous purification and immobilization of mushroom tyrosinase on an immunoaffinity support // Process Biochem. 2005. V. 40. P. 2379.
- Евтюгин Г.А., Будников Г.К., Стойкова Е.Е. Основы биосенсорики: учебное пособие. Казань: Казан. гос. ун-т. 2007. 82 с.
- Кулис Ю.Ю. Аналитические системы на основе иммобилизованных ферментов. Вильнюс: Мокслас, 1981. 200 с.
- *Zhao Q., Zhuang Q.K.* Determination of phenolic compounds based on the tyrosinase- single walled carbon nanotubes sensor // Electroanalysis. 2005. V. 17. № 1. P. 85.
- Березин И.В., Клёсов А.А. Практический курс химической и ферментативной кинетики. М.: Наука, 1976. 320 с.
- 20. Медянцева Э.П., Брусницын Д.В., Варламова Р.М., Байбатарова М.А., Будников Г.К., Фаттахова А.Н. Определение антидепрессантов амперометрическими моноаминоксидазными биосенсорами на основе графитовых печатных электродов, модифицированных многостенными углеродными нанотрубками // Хим.-фарм. журн. 2014. Т. 48. № 7. С. 52.
- Шашканова О.Ю., Ермолаева Т.Н. Новый метод диагностики аутоиммунных заболеваний, основанный на аффинной реакции на поверхности пьезокварцевого сенсора // Сорбционные и хроматографические процессы. 2009. Т. 9. Вып. 5. С. 677.
- Raysyan A., Moerer R., Coesfeld B., Eremin S., Schneider R. Fluorescence polarization immunoassay for the determination of diclofenac in wastewater // Anal. Bioanal. Chem. 2020. https://doi.org/10.1007/s00216-020-03058-w

том 76

2021

Nº 5

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

———— ХРОНИКА —

КОНФЕРЕНЦИЯ ПО ХРОМАТОГРАФИИ И КАПИЛЛЯРНОМУ ЭЛЕКТРОФОРЕЗУ

DOI: 10.31857/S0044450221050194

27 сентября-03 октября 2020 г. в пос. Ольгинка Краснодарского края прошла IV Всероссийская конференция "Аналитическая хроматография и капиллярный электрофореіз". Организаторами конференции выступили Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, Научный совет РАН по аналитической химии, Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Кубанский государственный университет, ООО НТЦ "БиАСеп". В конференции приняли участие 170 человек из Российской Федерации, Беларуси и Вьетнама. Заслушано 9 пленарных. 37 устных докладов, 3 доклада представителей фирм, а также представлено 124 стендовых сообщения.

Обсуждались аналитические возможности хроматографии и капиллярного электрофореза: тенденции развития хроматографии, в том числе в аспекте повышения селективности и эффективности; состояние хроматографического приборостроения; новые подходы в методе капиллярного электрофореза и тенденции развития метода; сорбенты и материалы для хроматографии и электрофоретического анализа; новые решения в хромато-масс-спектрометрии; автоматизация, хемометрическое и метрологическое обеспечение хроматографических и электрофоретических определений; пробоподготовка в хроматографическом анализе; практическое использование хроматографии и капиллярного электрофореза для анализа объектов окружающей среды и биообъектов.

Открыл конференцию почетный председатель оргкомитета академик Ю.А. Золотов с приветствием к участникам, в котором воздал должное существовавшему длительное время Научному совету АН СССР по хроматографии, как и его предшественнице – Комиссии АН СССР по хроматографии. Совет по хроматографии способствовал разработке и выпуску хроматографической техники, изданию литературы, согласованию терминологии, не говоря уже об организации многочисленных конференций, в том числе международных. Эта активность сыграла не последнюю роль в обеспечении весьма высокого уровня хроматографии в нашей стране. В заключение академик Ю.А. Золотов пожелал участникам конференции успешной работы.

Во вступительном слове председатель оргкомитета конференции член-корреспондент РАН О.А. Шпигун отметил последние достижения хроматографии и электрофореза в нашей стране, остановился на проблемах.

Российские ученые внесли большой вклад в развитие хроматографии, что и было продемонстрировано представленными на конференции докладами. Конференция прошла при высокой активности участников. Заседания собирали большую аудиторию, доклады выслушаны с вниманием и интересом, многие вызвали вопросы и дискуссию.

Пленарный доклад С.Н. Яшкина (Самарский государственный технический университет), посвященный анализу состояния и тенденций развития аналитической хроматографии, задал высокую тональность конференции. В докладе в основном рассмотрены достижения в двумерной жидкостной хроматографии, хромато-масс-спектрометрии и хроматографии гидрофильных взаимодействий, хроматографическое приборостроение, а также большое внимание уделено преподаванию хроматографии в российских вузах.

Л.А. Карцова (СПбГУ) в пленарном докладе "Наноструктурированные полимеры в капиллярном электрофорезе" показала, что наночастицы, обладающие уникально высокой удельной плошадью поверхности, образуют устойчивые суспензии в воде и в большинстве используемых в капиллярном электрофорезе фоновых электролитах, совместимые со многими органическими растворителями и масс-спектрометрическим детектированием. Это делает их перспективными модификаторами фонового электролита и стенок кварцевого капилляра в электрокинетических методах разделения. Новые подходы к внутрикапиллярному концентрированию, наряду с известными ранее, обеспечили существенное снижение пределов обнаружения биологически активных аналитов в сложных матрицах.

Обсуждению новых решений в хромато-массспектрометрии были посвящены два пленарных доклада: А.К. Буряка и А.З. Темердашева. Доклад А.К. Буряка "Хромато-масс-спектрометрические

476 КОНФЕРЕНЦИЯ ПО ХРОМАТОГРАФИИ И КАПИЛЛЯРНОМУ ЭЛЕКТРОФОРЕЗУ

методы исследования химии поверхности конструкционных материалов" был посвящен сравнению методов и подходов к совместному применению информации, полученной из разных источников. Рассмотрен комплекс хромато-массспектрометрических методов: газовая и жидкостная хромато-масс-спектрометрия, матрично- и поверхностно-активированная лазерная десорбция/ионизация с тонкослойной хроматографией в off-line варианте и термодесорбционная массспектрометрия. Доклад А.З. Темердашева (Кубанский государственный университет) "Хромато-масс-спектрометрические методы анализа в аналитической токсикологии и допинг-контроле" был посвящен применению хромато-массспектрометрии как низкого, так и высокого разрешения в указанных целях. Рассмотрены вопросы подготовки проб к хроматографическому анализу, приведена сравнительная характеристика методов. В докладе рассмотрены реализованные группой автора подходы к тому, чтобы минимизировать возможность возникновения ложноположительных и ложноотрицательных результатов в допинг-контроле.

В пленарном докладе Б.Б. Дзантиева (Федеральный исследовательский центр "Фундаментальные основы биотехнологии" РАН) "Новые решения в аналитической иммунохроматографии" были рассмотрены новые методические решения, снижающие предел обнаружения аналита при иммунохроматографическом тестировании, повышающие его производительность и информативность, но при этом сохраняющие основные достоинства иммунохроматографии – быстрое и нетрудоемкое получение результатов во внелабораторных условиях. В докладе представлены разработки, направленные на решение этой задачи. Предложенные подходы были реализованы для контроля токсичных загрязнителей сельскохозяйственной продукции и продуктов питания; белков. значимых для медицинской диагностики: бактериальных и вирусных фитопатогенов.

М.А. Статкус (МГУ им. М.В. Ломоносова) в пленарном докладе "Физические методы управления сорбцией аналитов для хроматографического разделения и концентрирования" дал обзор физических способов воздействия на сорбционные системы, привел многочисленные примеры их использования, обсудил некоторые собственные результаты. Показано, что разработка новых эффективных способов разделения и концентрирования предполагает управление поведением аналитов для достижения максимальной чувствительности, селективности и экспрессности анализа.

Следует отметить доклад П.Н. Нестеренко (МГУ им. М.В. Ломоносова) "Кинетически селективная хроматография", в котором проведена оценка состояния и перспектив использования кинетически селективной хроматографии в аналитической химии. Информации относительно применения кинетических эффектов в ВЭЖХ опубликовано немного. Немногочисленные результаты противоречивы и не всегда корректно объяснены. Одной из возможных причин является отсутствие сорбентов, обеспечивающих различие в скоростях диффузии низкомолекулярных сорбатов. Тем не менее результаты, полученные для нового поколения многообещающих сорбентов, открывают перспективы для развития кинетически селективной ВЭЖХ.

В пленарном докладе А.В. Затирахи (МГУ им. М.В. Ломоносова, Metrohm AG) "Новые возможности химически модифицированных анионообменников для ионной хроматографии" продемонстрировано несколько подходов, которые позволили получить химически модифицированные анионообменники, не уступающие по своим хроматографическим характеристикам коммерчески доступным сорбентам. Продемонстрированы преимущества использования определенных классов аминов для получения каждого типа ковалентно привитых функциональных слоев. Использование гидрофилизованных полиаминов для формирования функциональных слоев дает возможность одновременного определения слабоудерживаемых и сильнополяризуемых анионов. Значительный прогресс достигнут в разделении слабоудерживаемых органических кислот с помощью гиперразветвленных анионообменников. В связи с ситуацией в мире, связанной с пандемией коронавируса, докладчица, находившаяся в Швейцарии, приехать не смогла, и доклад представил ее научный руководитель и соавтор О.А. Шпигун.

пленарном докладе А.Ю. Канатьевой В (ИНХС РАН) "Структурная селективность хроматографических сорбентов: достижения и перспективы" показано, что в последние десятилетия мембранные технологии разделения паров и газов привлекают все больше внимания: с их помощью удаляют углекислый газ из дымовых газов, проводят очистку водорода в современных энергетических установках; большое количество работ посвящено разделению легких углеводородов. Актуальной остается задача масштабирования с сохранением газопроницаемости и селективности разделения, причем как в большую сторону при создании промышленных установок, так и в меньшую сторону при использовании мембранных полимеров в качестве хроматографических неподвижных фаз.

Среди устных докладов следует отметить доклад Т.А. Марютиной (ГЕОХИ РАН) "Противоточная хроматография в аналитической химии". В докладе с привлечением большого иллюстративного материала отмечены вехи развития метода от истоков до настоящего времени. Особое внимание уделено возможностям метода, выделяющим противоточную хроматографию в ряду других хроматографических методов, – созданию градиента концентрации реагента в неподвижной фазе и возможности концентрирования элементов из нефтяного сырья.

Заслушаны устные доклады по применению хроматографии в различных областях. Так, доклад Н.В. Ульяновского (САФУ им. М.В. Ломоносова) "Нецелевой скрининг и определение продуктов трансформации 1,1-диметилгидразина в объектах окружающей среды методами хроматографии и масс-спектрометрии" был посвящен использованию новых подходов при определении продуктов трансформации отравляющих веществ с использованием техники масс-спектрометрии высокого и сверхвысокого (Orbitrap) разрешения с ионизацией при атмосферном давлении, значительному расширению на этой основе круга известных продуктов трансформации, установлению механизма окислительных превращений, связыванию, миграции и трансформации НДМГ и продуктов его окисления в торфяных болотных почвах, характерных для районов падения отработанных частей ракет-носителей Европейского севера РФ.

В докладе И.И. Занозиной (ПАО "СвНИИНП") обсуждены задачи и проблемы хроматографического контроля параметров нефтяного сырья, технологических потоков и готовой продукции. Актуальной задачей является совершенствование лабораторного контроля действующих и вновь вводимых в эксплуатацию технологических процессов, входного контроля сырья и оценки качества целевой продукции для оперативного планирования и контроля производства, но в рамках комплекса стандартизованных методов, что является первоочередной задачей аналитических служб предприятий, отраслевых научно-исследовательских центров нефтеперерабатывающей отрасли.

В докладе А.Ю. Шолоховой (ИФХЭ РАН) "Изучение продуктов трансформации 1,1-диметилгидразина с помощью методов ГХ×ГХ–МС–МС с применением машинного обучения для интерпретации результатов" проведен комплексный анализ продуктов трансформации НДМГ сочетанием методов газовой хроматографии, массспектрометрии с методами машинного обучения.

Благодаря высоким чувствительности и экспрессности определений хроматография находит все большее применение в биохимии, биологии, медицине, фармации. В докладе С.А. Апполоновой (Первый МГМУ им. И.М. Сеченова) рассмотрены новые подходы при метаболомном профилировании как способе оценки безопасности и/или эффективности физиологически активных веществ. Исследовано изменение концентраций нейромедиаторов и их метаболитов у рыб зебрафиш, подвергавшихся действию различных концентраций диазепама. Данное исследование показало, что применение целевой метаболомики на примере зебрафиш позволяет выявить маркеры токсичности, что, в свою очередь, поможет в дальнейшем при проведении доклинических исследований новых оригинальных препаратов.

Важным направлением хроматографии является анализ пищевых продуктов, вин, пива, витаминов и соков. Проблемы, возникающие при анализе этих сложных объектов, рассмотрены в докладе О.Б. Рудакова (Воронежский государственный технический университет) "Хроматографические метаданные о жирнокислотном и аминокислотном составе в идентификации продукции животного и растительного происхождения". Показано, что при определении загрязнителей в пищевой продукции, а также различных ингредиентов, характеризующих качество, аутентичность или натуральность продукции, методы хроматографии наиболее информативны. Проанализировано три блока задач в аналитическом контроле качества и безопасности пищевой продукции. Это установление экологической безопасности; определение комплекса технологических свойств, гарантирующих высокое качество сырья и готовой продукции; распознавание натуральности, контрафакта; идентификация фирменной продукции.

Следует отметить доклад С.М. Староверова (БиоХимМак СТ), посвященный исследованию влияния структуры хирального лиганда на энантиоселективность сорбентов с иммобилизованными производными эремомицина.

Большой вклад в развитие аналитической хроматографии и электрофореза вносят молодые ученые. На конференции присутствовало 86 молодых ученых (более 50%), которые выступили с интересными докладами. Плодотворно прошла работа стендовой сессии. Было представлено 124 стендовых сообщения. При участии компанииспонсора проведен конкурс стендовых докладов. Лучшим признан доклад М.В. Степановой из Пермского национального исследовательского политехнического университета "Энантиоселективная хроматография оксазолопирролохинолонов на неподвижной фазе с привитым антибиотиком ристоцетином".

Тезисы устных и стендовых докладов изданы в виде сборника. Конференцию сопровождала выставка приборов, литературы, реактивов и оборудования для хроматографии и электрофореза, в которой участвовало 5 фирм. Ведущие специалисты фирм "Merck", "Shimadzu Europa GmbH", "Bruker", "M-Cneктp", "БиоХимМак CT" провели семинары с демонстрацией своего оборудования. Особо следует отметить активное участие молодых ученых в разработке новых направлений хроматографии.

Конференция показала, что в России проводятся важные фундаментальные и практические работы в области хроматографии и электрофореза, многие из которых являются пионерскими. Уровень фундаментальных и прикладных работ соответствует международному, а в ряде случаев и превосходит его.

О.Г. Татаурова

= ХРОНИКА =

ЮБИЛЕЙ Б.Я. СПИВАКОВА

DOI: 10.31857/S0044450221050200



Члену-корреспонденту РАН, доктору химических наук, профессору Борису Яковлевичу Спивакову 19 мая 2021 г. исполняется 80 лет. В 1963 г. Б.Я. Спиваков окончил Московский институт стали и сплавов, в 1968 г. поступил в аспирантуру Института геохимии и аналитической химии АН СССР и с тех пор продолжает работать в этом институте. С 1990 по 2015 г. занимал должность заведующего лабораторией концентрирования, а в настоящее время работает главным научным сотрудником. В 2003 г. Б.Я. Спиваков был избран членом-корреспондентом РАН.

Фундаментальные научные исследования Б.Я. Спивакова связаны с развитием экстракционных, хроматографических, мембранных и других современных методов разделения веществ. Б.Я. Спиваковым предложена общая теория обменной экстракции хелатов и внесен вклад в теорию экстракции комплексов металлов с позиций координационной химии и теорию синергетической экстракции. Выявлены закономерности влияния на экстракцию комплексов их устойчивости, заряда, гидратации. Работы коллективов, в которые входил Б.Я Спиваков, были отмечены премией им. Л.А. Чугаева АН СССР (1989 г.) и премией В.Г. Хлопина РАН (2004).

В лаборатории концентрирования под руководством Б.Я. Спивакова для экстракции ком-

плексов металлов с гидрофильными лигандами предложено использовать двухфазные водные системы на основе водорастворимых полимеров. Применение таких систем значительно расширило круг экстракционных реагентов и позволило работать в отсутствие обычных органических растворителей, что повышает безопасность работы с экстракционными системами. Водорастворимые полимеры, образующие комплексы с металлами, нашли свое применение в мембранной фильтрации для решения различных задач аналитической химии и радиохимии.

Под руководством Б.Я. Спивакова впервые было предложено использование метода противоточной распределительной хроматографии, реализуемого в планетарных центрифугах с вращающимися колонками, для разделения неорганических веществ, цикл работ был отмечен премией МАИК "Наука" за 1998 г. Развиты другие эффективные методы концентрирования неорганических ионов, в том числе метод, основанный на распределении комплексов металлов различной природы между водным раствором и алкилированным силикагелем. Значительное внимание Б.Я. Спиваков уделяет вопросам вещественного анализа, его теории и специфике использования методов пробоотбора, концентрирования и разделения различных форм элементов.

В последние годы при непосредственном участии Б.Я. Спивакова успешно развиваются методы выделения и исследования микро- и наночастиц различной природы. Проведен цикл работ по использованию многоступенчатых мембранных систем для изучения распределения металлов между частицами различного размера, включая и наночастицы, в различных природных объектах. Предложены новые способы концентрирования веществ с использованием физических полей (ультразвукового, магнитного).

Б.Я. Спиваков является автором более 250 работ, опубликованных в ведущих отечественных и международных журналах.

Б.Я. Спиваков много времени уделяет научноорганизационной работе. Он является членом Национального комитета российских химиков, заместителем председателя Научного совета РАН по аналитической химии, членом редколлегий "Журнала аналитической химии" и журнала "Успехи химии". Работал членом редсоветов международных журналов Talanta, Fresenius Journal of Analytical Chemistry, Pure and Applied Chemistry. В течении 12 лет Б.Я. Спиваков был титулярным членом Отделения аналитической химии Международного союза по теоретической и прикладной химии (ИЮПАК). Он входит в состав Отделения аналитической химии Европейской ассоциации химических и молекулярных наук. Постоянно принимает участие в отечественных и международных научных мероприятиях в качестве председателя и члена организационного комитета.

Редакция "Журнала аналитической химии", друзья и коллеги поздравляют Бориса Яковлевича с юбилеем и желают ему здоровья, счастья, удачи и новых свершений!