СОДЕРЖАНИЕ

-

Том 76, номер 11, 2021

обзоры

Математическое моделирование аналитической хроматографии: задачи и решения	
А. М. Долгоносов, А. Г. Прудковский, Е. А. Зайцева, Н. К. Колотилина, А. А. Долгоносов	963
ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ	
Определение состава стекол, производившихся на Лавинских заводах, методами рентгенофлуоресцентного анализа и оптической спектроскопии	
А. А. Дроздов, М. Н. Андреев, Д. С. Ратников, П. В. Евдокимов	977
Спектрометрия ионной подвижности имидазола и возможности его определения	
Д. А. Александрова, Т. Б. Меламед, Е. П. Баберкина, А. Е. Коваленко, Вл. Вит. Кузнецов, Вит. Вл. Кузнецов, А. А. Фенин, Ю. Р. Шалтаева, В. В. Беляков	989
Исследование сорбционных свойств полимерных гидрогелей на основе акриламида спектральными методами анализа	
Я. И. Симакина, Т. Г. Кузьмина, В. Г. Сенин	997
Определение кетостероидов в моче человека с применением дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции и ультра высокоэффективной жидкостной хроматографии—масс-спектрометрии высокого разрешения	
Е. В. Дмитриева, А. З. Темердашев, А. К. Осипова	1004
Новый дериватизирующий агент для определения метаболитов нитрофуранов в куриных яйцах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии—тандемной масс-спектрометрии	
А. О. Мелехин, В. В. Толмачева, Е. Г. Шубина, С. Г. Дмитриенко, В. В. Апяри, А. И. Грудев, Ю. А. Золотов	1012
Хиральная неподвижная фаза на основе конгломератов гуанина, полученных в условиях созревания Виедмы	
Н. И. Сайранова, Ю. Ю. Гайнуллина	1022
Определение индикаторных конгенеров полихлорированных бифенилов в воде на ультраследовом уровне концентраций методом газовой хроматографии—тандемной масс-спектрометрии	
О. В. Кустова, А. С. Степанов, А. Г. Горшков	1028
Сенсор для распознавания и определения энантиомеров триптофана на основе модифицированного энантиоморфными кристаллами бромтрифенилметана угольно-пастового электрода	
Ю. А. Яркаева, Е. Н. Исламуратова, Л. Р. Загитова, В. Ю. Гуськов, Р. А. Зильберг, В. Н. Майстренко	1038
В НАУЧНОМ СОВЕТЕ РАН ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ	
Премии совета за 2020 г.	1049
ХРОНИКА	
О.А. Шпигун (К 75-летию со дня рождения)	1051
Юбилей И.В. Рыбальченко	1053
80 лет Владимиру Георгиевичу Заикину	1055

УДК 539.19+539.2

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХРОМАТОГРАФИИ: ЗАДАЧИ И РЕШЕНИЯ

© 2021 г. А. М. Долгоносов^{а,} *, А. Г. Прудковский^а, Е. А. Зайцева^а, Н. К. Колотилина^a, А. А. Долгоносов^а

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

> **e-mail: amdolgo@mail.ru* Поступила в редакцию 04.04.2021 г. После доработки 15.04.2021 г. Принята к публикации 15.04.2021 г.

На основе анализа результатов оригинальных исследований, проведенных в лаборатории сорбционных методов ГЕОХИ РАН в рамках проекта "Математический хроматограф", рассматриваются цель и стратегия имитационного моделирования высокоэффективной хроматографии; сопутствующие им задачи теории межмолекулярных взаимодействий; классификации полярных неподвижных фаз по селективности; описания кинетики и динамики сорбционных процессов, выбора состава многокомпонентных подвижных фаз в ВЭЖХ и в ионной хроматографии с использованием метода динамической карты хроматографической системы; разработки знакопеременных градиентных режимов с применением математического эксперимента.

Ключевые слова: аналитическая хроматография, имитационное моделирование, теория межмолекулярного взаимодействия, селективность разделения, динамика сорбции.

DOI: 10.31857/S0044450221110049

Хроматографические процессы отличаются высокими требованиями к составу подвижной и неподвижной фаз и к точности осуществления сложных режимов разделения многокомпонентных смесей. Однако на практике выбор фаз и режимов часто носит случайный характер с параметрами, далекими от оптимальных.

Современная теория динамики сорбции в сочетании с результатами физико-химического описания селективности и кинетики сорбции позволяют сделать этот выбор осмысленным и более совершенным. Особенно удобны программные продукты, разработанные на базе математического моделирования хроматографических процессов с учетом их специфики и особенностей, которые позволяют проводить полномасштабные математические эксперименты, осуществлять поиск оптимальных условий и новых режимов разделения. В таком имитационном моделировании должны применяться математические модели высокого уровня, не использующие подгоночных параметров, и поэтому способные к априорному расчету.

С этой целью авторами выдвинута новая концепция хроматографического анализа и проводится разработка соответствующей методологии, базирующейся на максимальной замене реальных экспериментов имитационными, которые выполняются с помощью математических моделей высокого уровня. Проведение математических экспериментов требует решения так называемой прямой задачи моделирования, позволяющей рассчитать результат процесса по заданным исходным данным. При адекватной модели результаты априорных расчетов хорошо согласуются с проверочными экспериментами. Путем варьирования параметров прибора и решая для каждого варианта прямую задачу, можно выбрать такие их значения, которые удовлетворяют ограничениям метода и критерию оптимальности. В этом состоит использование математической модели для оптимизации анализа. Обратная задача моделирования, несущая функцию инструмента для анализа результатов реального эксперимента, может быть поставлена только при условии успешного решения прямой задачи. При проведении химического анализа необходима интерпретация аналитического сигнала в виде химической информации. Эта математически некорректная процедура, связанная с умножением фактов за счет догадок и интуиции оператора, содержит риск получения ложного результата. Использование обратной задачи моделирования, основанной на теоретическом знании особенно-



Рис. 1. Блок-схема взаимосвязей в программах по имитационному моделированию методов аналитической хромато-графии, входящих в комплекс "Математический хроматограф".

стей применяемого метода, существенно повышает уровень правильности и надежности результатов анализа. Итак, имитационное моделирование хроматографии позволяет сильно сократить объем экспериментальной работы при разработке методик анализа, избежать ошибок при идентификации аналитов и снизить систематическую составляющую экспериментальной погрешности.

Общая цель имитационного моделирования высокоэффективной хроматографии разбивается на ряд задач по разработке математических моделей методов газовой, ионной хроматографии и ВЭЖХ и созданию соответствующих программных продуктов. Эта цель рассматривалась в рамках инициативного проекта № 18-03-00382, поддержанного РФФИ в 2018–2020 гг. с условным названием "Математический хроматограф".

На рис. 1 представлена блок-схема взаимосвязей в программах по имитационному моделированию методов аналитической хроматографии, в которой учитывается, что:

 динамический процесс хроматографии подчиняется законам квазиравновесной термодинамики и включает в себя параметры равновесия и кинетики;

 равновесие определяется характером межмолекулярных взаимодействий в соответствии с участием неполярных, полярных, ионных взаимодействий и водородных связей;

 кинетика определяется величинами коэффициентов диффузии в подвижной фазе (ПФ) и неподвижной фазе (НФ) и размерами носителя и рабочей зоны НФ;

 в качестве исходных данных модели берутся параметры экспериментальной системы и фундаментальные свойства веществ, составляющих фазы и аналиты.

МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Обычно моделирование хроматографии основывается на большом эмпирическом материале, полученном производителем оборудования с использованием методов интерполяции [1, 2]. Такие подходы трудоемки, специфичны для конкретной техники, крайне ограничены при оптимизации и поиске новых режимов. Существуют также полуэмпирические модели, более обоснованные и способные на некоторый ограниченный прогноз результатов разделения [3-5]. Однако, ввиду большого числа эмпирических параметров и из-за неточности соотношений, поиск с их помощью новых более эффективных режимов практически исключен. В отличие от них, в рамках проекта "Математический хроматограф" разработаны и постоянно совершенствуются модели высокого уровня, базирующиеся на фундаментальном теоретическом описании хроматографических методов анализа [6, 7]. Такие модели дают широкую возможность для проведения математических экспериментов, в том числе в условиях очень сложных режимов, которые невозможно обнаружить при случайном экспериментальном поиске.

Общие динамические свойства хроматографических процессов. Описание процесса хроматографии можно условно разделить на две почти не пересекающиеся области: термодинамика и макрокинетика сорбции. Актуальность описания макрокинетики хроматографии во многом связана с успешным решением задачи априорного расчета сорбционного равновесия. Имеет ли смысл рассчитывать форму, высоту и ширину пика, если нет возможности предсказать его положение на хроматограмме, определяемое равновесием? Рассмотрение динамической задачи высокоэффективной колоночной хроматографии дает в первом приближении уравнение хроматограммы в виде огибающей гауссовых кривых J(t), построенных для компонентов пробы (аналитов):

$$J(t) = \sum_{i} J_{i}(t); \quad J_{i}(t) = \frac{\eta_{i} m_{i}}{w_{i} \sigma_{i} \sqrt{2\pi}} \exp\left[-\frac{\left(t_{i} - t\right)^{2}}{2\sigma_{i}^{2}}\right], \quad (1)$$

где $J_i(t)$ – уровень сигнала *i*-го компонента в момент времени *t* в выходном сечении колонки; m_i – масса компонента во введенной пробе; η_i – коэффициент чувствительности детектора к компоненту; w_i – величина потока ПФ в момент выхода пика компонента; σ_i^2 – дисперсия пика, связанная с кинетическими свойствами ПФ, компонента пробы и структурными параметрами НФ.

Положение максимума хроматографического пика в общем случае переменного режима и сжи-

маемой ПФ определяется как $t_i = t_0 + t'_i(L)$ из интегрального уравнения:

$$t'_{i}(L) = \int_{0}^{L} \frac{k_{i}(t'_{i}(x))}{v(x,t'_{i}(x))} dx,$$
(2)

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 11 2021

Таблица 1. Коэффициенты для вкладов кинетических стадий в высоту, эквивалентную теоретической тарелке

Фактор	Выражение для коэффициента
Продольная дисперсия	$A = 2D_1$
Внешняя диффузия	$B = \frac{\text{const} \cdot d^{1.5}}{\left(1 + 1/k_i\right)^2}$
Внутренняя диффузия	$C = \frac{2k_i r^2}{15D_2 \left(1 + k_i\right)^2}$

где $t'_i(x)$ — функция, получаемая при решении уравнения (2); $t_0 = \int_0^L \frac{dx}{v(x, t'_i(x))}$ — мертвое время;

L — длина колонки; $v(x, t'_i(x))$ — линейная скорость подвижной фазы в точке *x* в момент времени прохождения через нее фронта компонента; функция $k_i(t)$ определяется граничным условием по элюотропной силе ПФ и температуре системы. В частности, при изократическом/изотермическом режиме k = const, и время удерживания принимает обычный вид: $t_i = t_0 (1 + k_i)$.

Кинетические характеристики систем высокоэффективной хроматографии теоретически достаточно хорошо изучены и отображаются в виде высоты, эквивалентной теоретической тарелке (**BЭТТ**) [8], которая описывается уравнением ван Деемтера [9]:

$$h = \frac{A}{v} + Bv^{0.5} + Cv \tag{3}$$

(исправленная форма). Выражения для коэффициентов формулы (3) даны в табл. 1. Как видно, ВЭТТ зависит не только от гидродинамических (d – зернение сорбента, v – линейная скорость ПФ) и кинетических параметров (D_1, D_2 – коэффициенты диффузии аналита в ПФ и НФ соответственно, r – размер рабочей зоны НФ), но и от равновесных характеристик (k_i – фактор удерживания, связанный с константой Генри аналита через фазовое отношение). Вычисление ВЭТТ для каждой модели имеет свои особенности, учет которых позволяет избежать экспериментов по определению коэффициентов диффузии и других эмпирических параметров [7].

Величина, обратная ВЭТТ, имеет смысл удельной эффективности колонки, измеряемой как число теоретических тарелок на единицу длины колонки, поэтому эффективность колонки (число теоретических тарелок N) определяется интегралом:

$$N = \int_{0}^{L} \frac{dx}{h(x)}.$$
 (4)

Моделирование газовой хроматографии. Вариант газо-адсорбиионной хроматографии. Выдвинутый в работах [10, 11] и наиболее полно описанный в книгах [6, 7] аппарат составляет новую нелинейную молекулярно-статистическую (НМС) теорию адсорбции в области Генри, которая базируется на теории обобщенных зарядов (ТОЗ), разработанной из общих принципов квантовой статистики [12–14]. В отличие от полуэмпирических методов, опирающихся на грубый постулат об аддитивности атом-атомных потенциалов [15–17], в ТОЗ выводится другое правило сумм [18–20], благодаря которому достигается приемлемая точность описания межатомных и межмолекулярных взаимодействий без использования подгоночных параметров. Из ТОЗ следует выражение для потенциала ван-дер-ваальсовых взаимодействий, которое по форме совпадает с потенциалом Леннард–Джонса и не требует эмпирических параметров. На этой основе в работах [21, 22] была предложена модель критического состояния вещества, чрезвычайно важная для теории фазовых переходов 1-го рода. С помощью ТОЗ и модели критического состояния рассмотрена связь между параметрами межмолекулярного взаимодействия и критической температурой [23]. На примере инертных и простых газов проведены расчеты ab initio, которые хорошо согласуются с экспериментом.

Применение HMC-теории для априорного расчета адсорбции нескольких сотен органических молекул (линейных, разветвленных и циклических углеводородов, кислород- и галогенсодержащих соединений) на графите дает хорошее согласие с экспериментальными данными по температурной зависимости константы Генри для разных адсорбатов и адсорбентов [6, 7, 11, 14, 24, 25]. От того, насколько точно известна эта зависимость, сильно зависит возможность предсказания поведения компонента в сложных условиях программируемой температуры.

Схема работы программ GEOMOL и THENRY, разработанных для расчета зависимости коэффициента распределения от температуры по структурной формуле компонента пробы, дана на рис. 2. Однако разрешение пиков компонентов смеси зависит не только от их положения, но и от ширины. Взаимосвязи динамического процесса хроматографии в модели газовой хроматографии были дополнены оценками диффузионных коэффициентов и в целом ВЭТТ при описании кинетики [25, 26]. Таким образом, математическим базисом при моделировании молекулярной хроматографии служат фундаментальные теоретические представления об адсорбции и о кинетических механизмах, реализующихся в хроматографическом процессе. На описанном математическом базисе разработана программа MOLCHROM, позволяющая решать прямую задачу моделирования газо-адсорбционной и газо-жидкостной хроматографии с неполярными фазами (рис. 3).

Вариант газо-жидкостной хроматографии. Вописании процессов газо-жилкостной хроматографии к малоизученным относятся главным образом задачи, связанные с несовершенством характеристики селективности полярных неподвижных фаз. Характеристика селективности НФ в газовой хроматографии упирается в проблему нахождения энергии адсорбции в системе с дисперсионными, электростатическими и водородными связями. В отношении очень значимой величины — вклада водородной связи (Н-связи) до сих пор отсутствует консенсус по ее природе, а значит, и по величине. Опираясь на выводы традиционной квантовой теории химической связи об отсутствии вакантных орбиталей для образования Н-связи, вслед за Полингом [27] принято считать, что эта связь имеет электростатическую, а не квантовую природу. Сегодня это мнение реализуется в моделях, которые ложатся в основу полуэмпирических методов расчета межмолекулярных взаимодействий (ММВ). В противоположность наблюдаемой особенности "классической" Н-связи – смещению ИК-спектра колебаний ковалентной связи гидрида при образовании молекулярного комплекса в длинноволновую область [28], предположение об электростатической природе водородной связи может объяснить только эффект "синего" смещения указанной полосы спектра, для которого был введен специальный термин "неклассическая" или "неправильная" водородная связь [29]. Противоречие между особым характером водородной связи и электростатическими силами для конкретной системы не сильно заметно, так как причина у этих типов взаимодействия общая — наличие атома водорода и электроотрицательных атомов; одинаков и порядок величины. Тем не менее известны работы по водородным связям, построенные на статистическом анализе эмпирических данных, где электростатические и ковалентные силы образуют независимые компоненты [30]. Из-за принципиальной ошибочности модели, рассматривающей только дисперсионные и электростатические ММВ, удобство подходов, реализованных в виде компьютерных программ, нивелируется произвольностью выбора параметров расчета, касающихся набора конформаций, фиксированных углов и числа образующихся Н-связей, что приводит к ненадежности прогнозов, которые в результате нуждаются в проверке и корректировке [31, 32].

Принципиальное отличие классического электростатического взаимодействия между ло-

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ



Рис. 2. Алгоритм работы программ моделирования адсорбции. Стрелками показано направление расчетов; пересечения прямоугольников указывают на взаимосвязь соответствующих пунктов.



Рис. 3. Интерактивный интерфейс программы "MOLCHROM" с открытыми окнами "Oven" и "Recorder". Пример разделения (в порядке выхода) стирола, мета-, орто-, пара-ксилолов на капиллярной колонке с неполярной фазой типа сквалана.

кализованными на атомах зарядами от квантовомеханической (электронной) связи заключается в непосредственном участии электронов в создании последней. Стационарное состояние атомной системы обеспечивается финитным движением электрона водорода в области такой связи, поэтому его кинетическая энергия не может превышать абсолютной величины потенциальной энергии связи. Обратив это отношение, получим, что энергия связи не может быть меньше некоторой величины, диктуемой квантовой неопределенностью. Таким образом, квантовый характер Н-связи выражается в специальном эффекте: попадание молекулы в область небольшого телесного угла с вершиной на атоме водорода другой молекулы приводит к резкому скачку энергии ММВ, что можно представить как падение системы в узкий потенциальный "колодец". Таким образом, в дополнение к эффектам полярной природы, зависящим от дипольных моментов, водородное связывание, как и дисперсионные силы, вносит независимый вклад в ММВ.

Возможности подхода, развиваемого на основе ТОЗ, продемонстрированы не только при априорном расчете адсорбции и ван-дер-ваальсовых взаимодействий [18—20], но и при описании ковалентной связи [33—35]. Гидриды — обязательный участник водородного связывания. В работе [35] демонстрируется точность развиваемого подхода при описании характеристик гидридов. Выведенное простое выражение для длины связи гидридов с хорошей точностью соответствует экспериментальным величинам для широкого множества химических элементов:

$$r_{\rm HX} = 3.77 \, la_0 \arcsin \sqrt{\frac{2(n-1)^2 - \sqrt{2}(n-2)}{Z+1}},$$
 (5)

где n, Z – номер периода и атомный номер акцептора X, a_0 – радиус Бора.

Согласно развиваемой теории Н-связи гидридная и водородная связи имеют общую природу, и их характеристики для одних и тех же элементов взаимосвязаны. Закономерности Н-связи исследовались в работе [36], где получены выражения для ее характеристик и выведены критерии существования. На теоретическом графике (рис. 4),

построенном в координатах $x = \frac{r_{\text{H...X}}}{a_0 Z^{1/3}};$

 $a_0 Z^{\tau^2}$ $y = \frac{2E_{\text{H...X}} r_{\text{H...X}}^2}{a_0 e^2}$ ($r_{\text{H...X}}$, $E_{\text{H...X}}$ – длина и энергия H-

связи соответственно; Z – атомный номер акцептора H-связи; e – элементарный заряд) показана область существования водородной связи, границы которой разделяют классы веществ по способности к водородному связыванию. На основе количественных оценок приведены объяснения наличия или отсутствия растворимости в воде веществ, содержащих электроотрицательные атомы. Показано, что энергия водородной связи не может быть ниже некоторой величины:

$$y \equiv \frac{2E_{\text{H...X}}r_{\text{H...X}}^2}{a_0 e^2} \ge \frac{1}{6} \to E_{\text{H...X}} \ge \frac{a_0 e^2}{12r_{\text{H...X}}^2}.$$
 (6)

Из теории следуют выражения для пределов минимальной энергии и максимальной длины водородной связи через атомный номер акцептора: $E_{c,H...X} = 48.94Z^{-2/3}$ (кДж/моль), $r_{c,H...X} = 0.1119Z^{1/3}$ (нм). Развитая теория дает количественное объяснение некоторым "странностям", например эффекту гидрофобности хлоралканов, несмотря на способность к водородному связыванию хлоргидрида [37].

В работах [37, 38] новый подход к описанию Н-связи, как и общей модели ММВ, был расширен на органические вещества и на взаимодействие молекул пара с жидкостью. Энергия ММВ, согласно предложенной модели, содержит три независимые группы величин, описывающих неполярные, полярные силы и водородные связи. Каждая из сил представлена своим молекулярным дескриптором - соответственно обобщенным зарядом, дипольным моментом и двумя числами, отражающими способность молекулы быть донором или акцептором Н-связи. С помощью ТОЗ получены связи "структура-свойство" для всех составляющих энергии межмолекулярного взаимодействия. В частности, описан вклад Н-связи в общую энергию ММВ как произведение пороговой величины (4), имеющей квантовомеханическую природу, и вероятности правильного расположения взаимодействующих молекул $n_{\rm H}$. Последняя определяется как вероятность попадания системы взаимодействующих молекул в узкий потенциальный колодец и выражается через параметры молекулярной структуры (рис. 5).

Итак, новые представления о Н-связи вместе с выводами ТОЗ позволяют выразить энергию MMB общего вида и, в частности, энергию адсорбции полярных аналитов на полярных фазах через структурные дескрипторы.

В хроматографии известны традиционные эмпирические методики классификации неподвижных фаз [3, 39]. Пятимерная схема Роршнайдера (и подобные ей методики) основана на предполагаемой независимости пяти видов энергии у пяти эталонных образцов. Однако "чистых" веществ, у которых был бы только один вид взаимодействия, не существует. Кроме того, независимых видов межмолекулярной энергии не так много – меньше пяти. Отсюда вытекает ошибочность и избыточность схемы, так как пространство параметров Роршнайдера имеет меньшую размерность, а характеристики эталонных веществ суммируют

2021



Рис. 4. Область водородной связи на графике "длина—энергия" электронной связи согласно теории обобщенных зарядов. Точке с координатами (*x*₀, 1/6) соответствуют безразмерные величины минимальной энергии и максимальной длины H-связи.

вклады разных видов энергии и поэтому не могут служить ортами системы координат. Другие методы [40] используют одномерную схему гидрофобно-гидрофильного баланса, где неподвижные фазы имеют один оценочный параметр, чего явно недостаточно из-за сложной природы межмолекулярных взаимодействий.

Новый метод трехпараметрической характеристики (**TIIX**), разработанный на базе предложенной модели, является теоретически обоснованным и сбалансированным по числу независимых переменных в описании энергии MMB [41]. В методе TIIX по трем свойствам молекул (обобщенный заряд, дипольный момент и параметр Hсвязывания) определяются две характеристики

HФ: полярность $v = \frac{\mu^2}{Q} (Q - office Q)$ обощенный заряд,

 μ^2 – квадрат дипольного момента) и гидрофильность $w = \frac{n_{\rm H}}{O} (n_{\rm H} - {\rm вероятность} {\rm образования} {\rm H-css-}$

зи), которые удобно нанести на диаграмму, называемую картой селективности фаз. Метод ТПХ позволяет не только осуществить априорный расчет характеристик селективности фаз, но и обнаружить новые зависимости этих характеристик от особенностей молекулярного строения фаз. В частности, была найдена зависимость характеристик полярности и гидрофильности полиэтиленгликоля (ПЭГ) от массы молекулы полимера [42]. Выведенные теоретические зависимости полярности и гидрофильности ПЭГ от молекулярной массы представлены на рис. 6 в виде параметрической зависимости гидрофильности от полярности и



Рис. 5. Сечения молекул (круги 1 и 2) с атомами A_1 – акцептором и D_2 – донором H-связи и независимые движения молекул относительно центра дисперсионного взаимодействия (показано стрелками), которые требуется осуществить для попадания системы двух молекул в потенциальный колодец. Понятие узкого потенциального колодца иллюстрирует график для потенциальной энергии (дан внизу справа).



Рис. 6. График (карта селективности) в координатах полярность (v_p, Π^2) – гидрофильность (w_p) для полиэтиленгликоля (ПЭГ) с различными массами. Обозначения: (+) – данные, рассчитанные по экспериментальным константам МакРейнольдса; пунктирная кривая – теоретически рассчитанные характеристики ПЭГ, дискретность кривой обусловлена шагом, соответствующим массе мономера 44 Да. Смещение экспериментальных данных относительно теоретической кривой по величине абсциссы (0.020–0.025 Π^2) обусловлено систематической погрешностью метода МакРейнольдса.

хорошо коррелируют с экспериментальными данными, нанесенными на карту селективности.

Модель ММВ применена также при решении другой важной задачи аналитической хроматографии – определении условий и параметров НФ для тонкого хроматографического разделения геометрических изомеров метиловых эфиров жирных кислот [43]. Объяснена наблюдающаяся на практике инверсия селективности разных фаз по отношению к транс- и шис-изомерам с помощью двух механизмов сорбции, один из которых ответственен за физическую адсорбцию (и порядок выхода цис/транс), а другой — за поглощение адсорбата макромолекулой полимерной фазы (и обратный порядок удерживания). Последний механизм более эффективен, однако требует обязательного образования Н-связей и соответствия размеров клубка макромолекулы длине адсорбата.

Достигнутая точность модели MMB дает основания для рассмотрения прямой задачи моделирования газовой хроматографии: определения параметров удерживания по заданной структуре аналитов и неподвижной фазы. Таким образом, модель газо-адсорбционной хроматографии, разработанная для неполярных веществ и фаз, дополнена описанием полярных взаимодействий, что позволяет разработать общую модель газожидкостной хроматографии. Адекватность модели была проверена на разных этапах ее разработки. Сходимость результатов расчета по прямой задаче и данных экспериментов для газовой хроматографии удовлетворительна настолько, что появляется возможность создания программысимулятора современного газового хроматографа с широкими возможностями по выбору газа-носителя, колонки, сорбента, компонентов пробы, температурного и газодинамического режимов.

Моделирование жидкостной хроматографии. В случае ВЭЖХ к проблемам моделирования газовой хроматографии добавляются сложности описания конкурентной сорбции, многокомпонентных элюентов, сольватации, лиссоциации и т.п., свойственные ионной хроматографии. Обобщающая современные теории удерживания [3-5] феноменологическая модель ВЭЖХ [6, 44] в сочетании с ТОЗ позволила достаточно хорошо описать реальные системы почти без эмпирических параметров за исключением таких переносимых параметров, как сорбционная емкость и стандартная энергия адсорбента. На рис. 7 дан пример сравнения с экспериментом [45] результатов априорного расчета фактора удерживания нафталина в системе обращенно-фазовой ВЭЖХ в зависимости от доли модификатора в ПФ.

Указанная модель была дополнена выражением для энергии MMB, полученным для полярных систем газовой хроматографии, для описания различных вариантов сольватации, влияющих на удерживание в ВЭЖХ [46]. Ввиду чрезвычайной сложности эта задача требует дальнейшего изучения.

Выведено уравнение для элюотропной силы многокомпонентной ПФ в жидкостной хроматографии для случая эффективных элюентов [47], которое аналогично уравнению для элюента в ионной хроматографии [48, 49]. Элюотропная сила ϕ — единая характеристика многокомпонентной смеси, аналогичная концентрации однокомпонентной ПФ, подчиняется следующему уравнению, общему для ионной и жидкостной хроматографии:

$$a_0 = \sum_{j} n_j c_j K_j^{n_j} \varphi^{-n_j},$$
 (7)

где c_j — концентрация (с учетом коэффициента активности), K_j — константа ионного обмена *j*-го компонента ПФ на опорный компонент "*R*" (**OK**) (для ВЭЖХ: $K_j \equiv K_{jR}$ — константа конкурентной сорбции компонента и OK), n_j — заряд компонента (для ВЭЖХ: отношение молекулярных площадок компонента пробы и ОК), a_0 – ем-кость НФ по ОК.

Моделирование ионной хроматографии. В работах [48, 49] описаны принципы и возможности подхода к моделированию ионной хроматографии (ИХ), базирующегося на достижениях теории динамики сорбции, адаптированной к особенностям ионной хроматографии. В результате компьютерного моделирования разработана программа "IONCHROM©" [50] (рис. 8).

С помощью программы "IONCHROM" рассмотрены задачи многоколоночной ИХ с изократическим и градиентным элюированием [51, 52]. Для определения необходимых для моделирования параметров новой хроматографической системы строят ее динамическую карту, по которой рассчитывают режимы требуемого разделения в разных областях значений рН и концентраций, после чего для корректировки параметров достаточно провести 3—4 эксперимента с выбранными элюентами. Уточненная с помощью найденных параметров модель используют для прогноза поведения системы и, в частности, для оптимизации анализа [53].

ОПТИМИЗАЦИЯ И ДИНАМИЧЕСКАЯ КАРТА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

Подход к описанию многокомпонентных ПФ использован для оптимизации ВЭЖХ-анализа по экономическому критерию [54]. На примере хроматографического эксперимента из литературного источника найдены параметры применяемой там системы ВЭЖХ и рассчитан оптимальный состав ПФ для проведения описанного эксперимента, вдвое удешевляющий анализ.

Выбор хроматографических фаз не ограничивается обеспечением требуемой селективности. Также проводятся исследования и в области кинетики сорбции для оптимизации неподвижных фаз по разрешающей способности и скорости разделения. Для сравнения новых НФ, создаваемых для аналитической хроматографии, предложен новый критерий, оценивающий эффективность и экспрессность НФ [55]:

$$\rho = \frac{N}{D_m t_{\rm an}} d^2, \tag{8}$$

где D_m — коэффициент диффузии компонента в ПФ, t_{an} и N — продолжительность и эффективность определения компонента, d — зернение колоночной загрузки. Смысл характеристики НФ по эффективности и производительности передает название "коэффициент производительности сорбента": чем больше величина критерия, тем больше произведение эффективности на произ-



Рис. 7. Зависимость логарифма фактора удерживания нафталина от доли модификатора в подвижной фазе вода-метанол. Данные эксперимента – точки (+) [45]. Расчет – сплошная линия [44].

водительность анализа за время продольной диффузии на масштабе размера зерна загрузки.

Выбор наилучших условий разделения смесей с учетом селективности и эффективности хроматографической системы – центральная проблема оптимизации хроматографии. В литературе выработан ряд критериев оптимальности, направленных на достижение максимального разделения за определенное время анализа, максимальной производительности анализа и т.п. [3, 56]. Важным критерием оптимизации является понятие пиковой емкости, введенной в работах Кайзера [57] как число (оно может быть нецелым) дополнительных пиков, которые можно поместить в свободных от пиков промежутках хроматограммы. Поиск минимума пиковой емкости соответствует цели повышения производительности хроматографии. Однако пиковая емкость – не очень удобный критерий оптимизации, так как строго нулевая пиковая емкость практически недостижима, а результат с ненулевой пиковой емкостью является вырожденным и нуждается в дополнительных критериях. Более точным критерием является продолжительность однократного анализа, который минимизируют при выполнении требований по степени разделения компонентов [48, 51]. Эффективное применение этого критерия требует наличия математической модели хроматографического метода, приводящей к построению динамической карты хроматографической системы.

ДОЛГОНОСОВ и др.



Рис. 8. Интерактивный интерфейс программы "IONCHROM" с открытыми окнами элюента, разделяющей колонки, подавителя, динамической карты хроматографической системы и поля теоретической и экспериментальной хроматограмм.

Систему уравнений модели жидкостной хроматографии можно представить в виде графика динамической карты хроматографической системы (ДКХС), которая удобна как характеристика хроматографического поведения интересующих компонентов и инструмент для поиска оптимальных режимов разделения.

Абсциссой на динамической карте является $X = \lg \varphi$, где элюотропная сила П $\Phi \varphi$ вычисляется по уравнению (7). На оси ординат (ось *y*) откладывается логарифм относительного удерживания, если за нуль принята характеристика опорного компонента:

$$y_i = \lg(k_i/k_R). \tag{9}$$

Каждому компоненту пробы на ДКХС соответствует полоса, построенная вокруг средней линии $y_i(X)$, которая описывается уравнением:

$$y_i = n_i \lg K_i - (n_i - 1)X,$$
 (10)

где учтены единичные значения константы и заряда для OK.

Границы полосы связаны с характеристиками хроматограммы – исправленным временем удерживания t'_i и полушириной пика $\tau_i = \sigma_i \sqrt{8 \ln 2} \approx 2.35 \sigma_i$ – выражением

$$y_{i\pm} = y_i + \lg (1 \pm \delta_i),$$

$$\delta_i = R_i \tau_i / t'_i \approx R_i \sqrt{8 \ln 2 / N_i} \ll 1,$$
(11)

где $\delta_i \approx 2.35 R_i / \sqrt{N_i}$ – полуширина *i*-ой полосы, R_i – степень разрешения пика (требуемая степень разделения компонента с соседями). Зоны пересечения полос на ДКХС соответствуют пикам на хроматограмме, не разделенным с необходимой степенью.

Из уравнения (10) следует, что аналиты с различающимися зарядами n_i всегда можно разделить, подобрав соответствующий режим на динамической карте, так как их полосы идут под разными углами и, начиная с некоторой точки, перестают пересекаться. Также можно заметить, что с разных сторон от точки пересечения средних линий лежат области режимов с разным порядком элюирования этих компонентов. Средние линии двух одинаково заряженных ионов пробы параллельны, так что их последовательность выхода не может быть изменена, а от величины силы элюента зависит только ширина полос.

На рис. 9 приведена ДКХС для смеси анионов в модельной системе с характеристиками ионного хроматографа фирмы "DIONEX" (США) [58].



Рис. 9. Динамическая карта хроматографической системы для разделения с критерием R = 1 смеси анионов: F⁻(1), HCOO⁻(2), Cl⁻(3), NO₂⁻(4), Br⁻(5), NO₃⁻ (б), PO_4^{3-} (7), PO_3F^{2-} (8), SO_4^{2-} (9) при pH 10.82 и следующих характеристиках: разделяющая колонка 180 × 3 мм, сорбент со структурой поверхностнопривитого ионита AS-14a зернением 5 \pm 0.5 мкм, с толщиной сферической оболочки 140 нм, емкостью 0.038 мэкв/мл; подавитель-электродиализатор ASRS-ULTRA2-mm: расход карбонатного элюента 0.5 мл/мин [59]. Вертикальные линии соответствуют двум изократическим режимам: И1 – приведенному в каталоге фирмы "DIONEX" эксперименту, И2 - оптимальному элюенту в заданных условиях. Выделенный штриховкой прямоугольник (в запрещенной области для изократического режима с критерием R = 1) соответствует границам слабого градиентного режима "линза", показанного на рис. 10.

Градиентное элюирование является удобным способом анализа смесей с компонентами, сильно различающимися по удерживанию. В немногочисленных работах по моделированию градиентной хроматографии [4, 5] разрабатываются простые модели удерживания, позволяющие рассчитывать однокомпонентные элюенты и линейные градиенты. Однако уровня этих моделей явно недостаточно для рассмотрения сложных градиентных режимов, слабо учитывается достигаемая в расчетах степень разделения компонентов пробы, что сильно обесценивает роль моделирования при разработке методик и при анализе (соответственно при решении прямой и обратной задач). В работах [7, 53] приводятся основные соотношения для равновесных и кинетических характеристик градиентной ИХ, даны примеры решения прямой и обратной задач для систем ионных хроматографов фирмы "DIONEX", использующих как изократическое, так и градиентное элюирование. Дальнейшие исследования [59, 60] показали, что точность описания градиентной хроматографии можно повысить. Уровень детализации модели градиентной хроматографии в программе "IONCHROM" достаточно высокий для рассмот-



Рис. 10. Теоретическая хроматограмма, рассчитанная для режима "линза" разделения смеси девяти анионов $(1 - F^-, 2 - HCOO^-, 3 - Cl^-, 4 - NO_2^-, 5 - Br^-, 6 - NO_3^-, 7 - PO_4^{3-}, 8 - PO_3F^{2-}, 9 - SO_4^{2-})$ на системе ICS-5000 с колонкой AS-14a. В изократическом режиме И2 система (см. подпись к рис. 9) способна максимально быстро разделить смесь за 9 мин, при этом компоненты выходят в порядке перечисления.

рения знакопеременных градиентных режимов [61, 62]. На рис. 10 приведен пример хроматограммы, рассчитанной для знакопеременного режима "линза", приводящего к полному разделению смеси анионов за втрое меньшее время, чем лучший из изократических режимов на той же системе.

Работа [62] указывает на возможность создания универсального алгоритма решения чрезвычайно сложной задачи оптимизации градиентного режима ионной хроматографии и ВЭЖХ на примере так называемого режима "слабых" градиентов.

Все важные компоненты и логические связи разрабатываемой программы "Математический хроматограф" охарактеризованы в презентации [63], а основная библиография, некоторые разработки и программы приведены на сайте проекта https://www.grompiac.com.

* * *

Проект "Математический хроматограф" включает в себя математические модели аналитических методов газовой, жидкостной и ионной хроматографии. Создана теоретическая база для разработки моделей высокого уровня, не требующих подгоночных параметров и позволяющих ставить математические эксперименты в широких границах. Авторы полагают, что объединение представленного большого арсенала разработок в области моделирования методов аналитической хроматографии в единую программу не имеет принципиальных препятствий и потребует сравнительно небольшого времени.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Программный продукт для обработки данных по хроматографии "Clarity". https://downloads.dataapex.com/documentation/clarity/manuals/solutions/ clarity-demo.pdf (01.04.21).
- Программный продукт для обработки данных по хроматографии "Chromeleon". https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Product-Guides/QS-7229-0004-Chromeleon-7-2-QS72290004-EN.pdf (01.04.21).
- Схунмакерс П. Оптимизация селективности в хроматографии / Пер. с англ. под ред. Даванкова В.А. М.: Мир, 1989. 399 с.
- 4. *Snyder L.R., Dolan J.W.* High-Performance Gradient Elution: The Practical Application of the Linear-Solvent-Strength Model. Hoboken. New Jersey: Wiley & Sons Inc., 2007. 496 p.
- Madden J.E., Avdalovic N., Haddad P.R., Havel J. Prediction of retention times for anions in linear gradient elution ion chromatography with hydroxide eluents using artificial neural networks // J. Chromatogr. A. 2001. V. 910. P. 173.
- Долгоносов А.М. Неспецифическая селективность в проблеме моделирования высокоэффективной хроматографии. Изд. 2, стереотип. М.: КРАСАНД, 2013. С. 256.
- Долгоносов А.М., Рудаков О.Б., Прудковский А.Г. Колоночная аналитическая хроматография: практика, теория, моделирование. СПб: Лань, 2015. С. 468.
- Glueckauf E. Theory of chromatography. IX. Theoretical plate concept in column separations // Trans. Faraday Soc. 1955. V. 51. P. 34.
- Van Deemter J.J., Znideveg F.J., Klinkenberg A. Longitudinal diffusion and resistance to mass transfer as causes of nonideality in chromatography. // Chem. Eng. Sci. 1956. V. 5. P. 271.
- 10. Долгоносов А.М. Связь между величиной молекулярной площадки и константой Генри при адсорбции органических молекул на неспецифическом адсорбенте // Журн. физ. химии. 1994. Т. 68. № 12. С. 2187.
- Dolgonosov A.M. Calculation of adsorption energy and Henry law constant for nonpolar molecules on a nonpolar uniform adsorbent // J. Phys. Chem. B. 1998. V. 102. № 24. P. 4715.
- 12. *Dolgonosov A.M.* Determination of the size and energy of atoms within the framework of a multicomponent electron gas model // Russ. J. Phys. Chem. 2000. V. 74. Suppl. 2. P. S324.
- 13. Долгоносов А.М. Зависимость атомного радиуса и потенциала ионизации от атомного номера со-

гласно теории многокомпонентного электронного газа // Журн. физ. химии. 2008. Т. 82. № 12. С. 2306.

- Долгоносов А.М. Модель электронного газа и теория обобщенных зарядов для описания межатомных сил и адсорбции. М.: Книжный дом ЛИБРОКОМ, 2009. С. 176.
- 15. *Pertsin A.I., Kitaigorodsky A.I.* The Atom-Atom Potential Method in the Physics and Chemistry of Organic Molecular Solids. Berlin: Springer Verlag, 1986. 371 p.
- Авгуль Н.Н., Киселев А.В., Пошкус Д.П. Адсорбция газов и паров на однородных поверхностях. М.: Химия, 1975. 384 с.
- Буряк А.К. Применение молекулярно-статистических методов расчета термодинамических характеристик адсорбции при хромато-масс-спектрометрической идентификации органических соединений // Успехи химии. 2002. Т. 71. С. 788.
- 18. Долгоносов А.М. Теория обобщенных зарядов для межатомных взаимодействий // Журн. физ. химии. 2001. Т. 75. № 10. С. 1813.
- Долгоносов А.М. Обобщенный заряд в описании адсорбции в области Генри // Журн. физ. химии. 2002. Т. 76. № 6. С. 1107.
- 20. Долгоносов А.М. Эффект экранирования в межатомных взаимодействиях // Журн. физ. химии. 2002. Т. 76. № 12. С. 2216.
- 21. *Dolgonosov A.M.* Hypothesis for coordination number of critical fluid molecules expressed in model potential and critical temperature for simple substances // Theor. Chem. Acc. 2020. V. 139. P. 90.
- 22. *Dolgonosov A.M.* Critical fluid density obtained from the theory of the generalized charges in accordance with the hypothesis of the first coordination number // Struct. Chem. 2021. V. 32. P. 329.
- 23. Долгоносов А.М. Применение теории обобщенных зарядов для априорного расчета коэффициента поверхностного натяжения и критической температуры однородных неполярных жидкостей // Изв. АН. Сер. хим. 2016. № 4. С. 952.
- 24. Долгоносов А.М. Влияние формы неразветвленных молекул углеводородов на их адсорбцию однородной поверхностью // Журн. физ. химии. 1998. Т. 72. № 1. С. 101.
- Долгоносов А.М., Прудковский А.Г., Руденко Б.А. Неэмпирический молекулярно-статистический метод расчета термодинамических характеристик адсорбции / 100 лет хроматографии / Под ред. Руденко Б.А. М.: Наука, 2003. С. 269.
- 26. *Прудковский А.Г.* Моделирование газовой хроматографии при заданной зависимости константы Генри от температуры // Журн. аналит. химии. 2005. Т. 60. № 7. С. 723.
- 27. *Pauling. L.* Nature of forces between large molecules of biological interest // Nature. 1948. V. 161. P. 707.
- 28. *Соколов Н.Д.* Водородная связь // Успехи физ. наук. 1955. Т. 57. № 2. С. 205.

- 29. *Hobza P.* Theoretical studies of hydrogen bonding // Ann. Rep. Prog. Chem. Sect. 2004. V. 100. P. 3.
- Abraham M.H. Hydrogen bonding. 31. Construction of a scale of solute effective or summation hydrogen-bond basicity // J. Phys. Org. Chem. 1993. V. 6. P. 660.
- Oliveira B.G., Vasconcellos M.L.A.A. Hydrogen bonds in alcohols: Water complexes: A theoretical study about new intramolecular interactions via CHELPG and AIM calculations // J. Mol. Struct: THEOCHEM. 2006. V. 774. № 1–3. P. 83.
- Dannenberg J.J., Haskamp L., Masunov A. Are hydrogen bonds covalent or electrostatic? A molecular orbital comparison of molecules in electric fields and H-bonding environments // J. Phys. Chem. A. 1999. V. 103. P. 7083.
- Долгоносов А.М. Влияние вырождения электронов на параметры межатомных взаимодействий // Журн. неорг. химии. 2015. Т. 60. № 2. С. 233.
- Долгоносов А.М. Универсальное соотношение для энергии и длины ковалентной связи, следующее из теории обобщенных зарядов // Журн. неорг. химии. 2017. Т. 62. № 3. С. 330.
- Долгоносов А.М. Описание донорно-акцепторной связи с помощью теории обобщенных зарядов // Журн. неорг. химии. 2019. Т. 64. № 4. С. 389.
- Долгоносов А.М. Представление о водородной связи, следующее из теории обобщенных зарядов // Журн. структ. химии. 2019. Т. 60. № 11. С. 1765.
- 37. Долгоносов А.М. Модель образования водородной связи между молекулами пара и жидкости // Журн. структ. химии. 2020. 61. № 7. С. 1107.
- 38. Долгоносов А.М. Модель межмолекулярного взаимодействия общего типа между молекулой и жидкой фазой, основанная на теории обобщенных зарядов // Сорбционные и хроматографические процессы. 2020. Т. 20. № 3. С. 343.
- Abraham M.H., Ibrahim A., Zissimos A.M. Determination of sets of solute descriptors from chromatographic measurements // J. Chromatogr. A. 2004. V. 1037. P. 29.
- Ševčik J., Löwentap M.S.H. New criterion for polarity of stationary phases in gas chromatography // J. Chromatogr. A. 1981. V. 217. P. 139.
- Зайцева Е.А., Долгоносов А.М. Трехпараметрическая модель межмолекулярных взаимодействий как основа для классификации и выбора неподвижных фаз для газовой хроматографии // Сорбционные и хроматографические процессы. 2019. Т. 19. № 5. С. 525.
- Долгоносов А.М., Зайцева Е.А. Модель межмолекулярного взаимодействия с образованием водородной связи и ее применение для характеристики селективности хроматографических фаз на примере полиэтиленгликолей // Журн. структ. химии. 2020. Т. 61. № 8. С. 1300.
- Долгоносов А.М., Зайцева Е.А. Факторы, определяющие селективность неподвижных фаз к геометрическим изомерам жирных кислот в анализе ме-

тодом газожидкостной хроматографии // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 12. С. 1119.

- 44. Долгоносов А.М. Характеристики адсорбции, конкурентной сорбции и сольватации для описания удерживания в жидкостной хроматографии. II. Расчет параметров модели // Сорбционные и хроматографические процессы. 2011. Т. 11. № 4. С. 449.
- LePree J.M., Cancino M.E. Application of the phenomenological model to retention in reversed-phase highperformance liquid chromatography // J. Chromatogr. A. 1998. V. 829. P. 41.
- 46. Пономарев Ф.В., Долгоносов А.М. Теоретическое описание трех основных механизмов удерживания в обращенно-фазовой ВЭЖХ на примере молекул нафталина, урацила и фенола // Сорбционные и хроматографические процессы. 2018. Т. 18. № 5. С. 646.
- 47. Долгоносов А.М. Описание элюирующей способности многокомпонентной подвижной фазы в ВЭ-ЖХ обобщенным параметром // Сорбционные и хроматографические процессы. 2013. Т. 13. № 2. С. 141.
- 48. Долгоносов А.М., Сенявин М.М., Волощик И.Н. Ионный обмен и ионная хроматография. М.: Наука, 1993. 222 с.
- 49. Прудковский А.Г., Долгоносов А.М. Теория ионной хроматографии: универсальный подход к описанию параметров пика // Журн. аналит. химии. 1999. Т. 54. № 2. С. 118.
- Прудковский А.Г., Долгоносов А.М. Программа для моделирования ионной хроматографии IONCHROM. Патент № 2000610520 РФ, зарегистр. 20.04.2000, выдан 19.06.2000.
- 51. Долгоносов А.М., Прудковский А.Г. Программа адекватного моделирования IONCHROM эффективное средство решения практических задач ионной хроматографии // Журн. аналит. химии. 2002. Т. 57. № 12. С. 1276.
- 52. Долгоносов А.М., Прудковский А.Г., Колотилина Н.К. Прямая и обратная задачи моделирования градиентной ионной хроматографии // Журн. аналит. химии. 2007. Т. 62. № 11. С. 1162.
- 53. Долгоносов А.М., Прудковский А.Г., Колотилина Н.К. Моделирование новой хроматографической системы с помощью программы IONCHROM и выбор оптимального режима хроматографического анализа // Журн. аналит. химии. 2016. Т. 71. № 7. С. 731.
- 54. Пономарев Ф.В., Долгоносов А.М. Проверка модели обращенно-фазовой ВЭЖХ, разработанной на базе теории обобщенных зарядов, и ее применение для оптимизации подвижной фазы // Сорбционные и хроматографические процессы. 2018. Т. 18. № 1. С. 15.
- 55. Долгоносов А.М. Критерий выбора неподвижных фаз для повышения производительности хроматографического анализа // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 4. С. 279.

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 11 2021

- 56. *Руденко Б.А., Руденко Г.И.* Высокоэффективные хроматографические процессы: В 2-х тт. М.: Нау-ка, 2003. Т. 1. 425 с.
- 57. *Kaiser R*. Neuere Ergebnisse zur Anwendung der Gras-Chromatographie // Z. Anal. Chem. 1962. V. 189. P. 1.
- Thermo Scientific (DIONEX). Specification Sheet: IonPac AS14A Anion-Exchange Column https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/ 056901#/056901 (01.04.21).
- 59. Прудковский А.Г. Асимптотика моментов решения линейной неэрмитовой системы уравнений высокоэффективной колоночной хроматографии // Доклады АН. 2013. Т. 453. № 4. С. 373.
- 60. Прудковский А.Г. Динамическая карта хроматографической системы как инструмент исследования переменных процессов в высокоэффективной жидкостной хроматографии // Вычислительные

методы и программирование. 2013. Т. 14. Разд. 1. С. 390.

- 61. Долеоносов А. М., Прудковский А. Г. Метод обратимых вариаций для оптимизации градиентной ионной хроматографии // Доклады АН. 2013. Т. 449. № 3. С. 295.
- 62. Долгоносов А.М., Прудковский А.Г. Приближение слабого градиента в теории градиентной ионной хроматографии // Сорбционные и хроматографические процессы. 2020. Т. 20. № 5. С. 572.
- 63. Долгоносов А.М. Математическое моделирование хроматографии в проблеме повышения селективности анализа / Тезисы докладов IV Всероссийской конференции "Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез". Краснодар, 27 сентября—3 октября 2020 г. С. 107. Презентация секционного доклада выложена по адресу: https://www.grompiac.com/presentations (01.04.21).

УДК 543.422.8

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТАВА СТЕКОЛ, ПРОИЗВОДИВШИХСЯ НА ЛАВИНСКИХ ЗАВОДАХ, МЕТОДАМИ РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА И ОПТИЧЕСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

© 2021 г. А. А. Дроздов^{а,} *, М. Н. Андреев^а, Д. С. Ратников^а, П. В. Евдокимов^а

^a Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет Ленинские горы, 1, стр. 3, Москва, 119991 Россия *e-mail: camertus@mail.ru Поступила в редакцию 18.03.2021 г. После доработки 12.04.2021 г.

Принята к публикации 12.04.2021 г.

Составы русского стекла XVIII в., производившегося на казенных заводах, до настоящего времени практически не исследованы. В работе представлены результаты изучения состава стекол, обнаруженных в 2020 г. на месте Лавинских заводов (1730–1760-е гг.). Для определения состава стекол использованы взаимодополняющие аналитические методы: рентгенофлуоресцентный анализ, энергодисперсионный рентгеновский спектральный микроанализ и оптическая спектроскопия. Выявлен общий тип стекол (K₂O–CaO–SiO₂), а также выделены группы стекол, соответствующие различным рецептурам варки. Обсуждается роль различных функциональных добавок в исследованых стеклах.

Ключевые слова: определение состава силикатных стекол, исторические объекты, рентгенофлуоресцентный анализ, рентгеноспектральный микроанализ, оптическая спектроскопия. DOI: 10.31857/S0044450221110050

Изучение состава объектов исторического и культурного наследия современными физико-химическими методами – одна из актуальных задач аналитической химии. При изучении изделий из стекла первоочередной задачей является определение химического состава образца с целью получения информации о методах производства, месте производства [1], а иногда и для выявления причин, по которым эти предметы были произведены [2]. Используя данные химического анализа, можно сделать предположение об используемом сырье и о способе производства. В некоторых случаях также могут быть получены данные о месте происхождения сырья [3].

Специфика объектов культурного наследия не позволяет применять для их изучения разрушающие методы, что ограничивает возможности исследователя. С другой стороны, при изучении исторических стекол ставяться задачи, которые предусматривают в первую очередь определение типа материала, т.е. содержания в нем важнейших компонентов, а также функциональных добавок, например красителей. При рассмотрении русского стекла XVIII века важно определить содержание в стекле оксидов Si, K, Ca (основные компоненты), а также As, Sb, Fe, Mn, Co, Cu (микрокомпоненты). При этом перед исследователем не стоит задача определения этих компонентов с высокой точностью. Для того, чтобы сделать вывод о типе стекла и о природе его окраски, достаточно оценить содержание компонентов с хорошей воспроизводимостью, но при этом с точностью (правильностью) в несколько процентов [4].

Для определения составов исторических стекол используют различные методы [5]. Первыми стали применять разрушающие методы, такие как масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой [6–8] и эмиссионный спектральный анализ [9]. Затем получили развитие нейтронноактивационный анализ, ионно-пучковые методы анализа, рентгеновские методы, электронная микроскопия, изотопный анализ. Каждый из них имеет свои недостатки, затрудняющие применение для анализа объектов культурного наследия в силу специфики способов их музейного хранения и экспонирования, а также размера объектов, которые не помещаются в камеру анализатора.

В последние годы получили развитие неразрушающие методы исследования стекол, такие как спектроскопия комбинационного рассеяния и ИК-спектроскопия, а также рентгенофлуоресцентный анализ. Спектроскопия комбинационного рассеяния находит широкое применение, прежде всего, при изучении таких образцов, в которых наблюдается выделение кристаллических фаз. Это в первую очередь глушеные (непрозрачные) стекла, например молочное стекло, имитирующее фарфор [10].

Более широкое применение для анализа находит рентгенофлуоресцентный анализ (**РФА**) [11]. Это экспрессный аналитический метод для определения химического состава многих типов материалов. Он является неразрушающим, практически не требует подготовки образца и поэтому подходит для археометрических исследований стеклянных и каменных находок [12]. В целом метод РФА можно использовать для определения широкого круга элементов, от натрия до урана, с пределами обнаружения на уровне десятков ррт, однако для определения легких элементов требуется вакуумирование.

Даже для однородных образцов корреляция между интенсивностью характеристической линии элемента и его концентрацией обычно оказывается нелинейной из-за матричных эффектов. Таким образом, количественный анализ стекла может быть выполнен либо с помощью эмпирической коррекции (введения поправок на интенсивность или концентрацию), либо с применением метода фундаментальных параметров, учитывающим взаимное влияние атомов различных элементов и матричные эффекты в объектах данного вида путем составления уравнений связи концентрации элемента с интенсивностью аналитической линии [13].

В данной работе представлены результаты определения состава стекол методом РФА с использованием программы, основанной на фундаментальных параметрах. Для исследования отобрали уникальные фрагменты русского стекла XVIII века, произведенного на Лавинских заводах [14]. Лавинские заводы, основанные В. Эльмзелем в Южном Приладожье на правом берегу реки Лава в первой половине 1730-х гг., а после его смерти в 1738 г. перешедшие в казну, выпускали зеркальные, оконные стекла и посуду [15]. Заводы производили стекло до 1760-х гг. [16]. Летом 2020 г. на месте Лавинских заводов были отобраны для исследования около 100 образцов. Это куски стекла из горшков, осколки зеркальных стекол, полученных литьем, фрагменты оконных кругов и посуды, выполненные в гутной технике.

Для каждого образца выполняли три независимых измерения, для расчетов использовали их среднее арифметическое. Время измерения составляло 30 с. Содержание элементов с порядковыми номерами 13-16 определяли при помощи программы Mining LE FP, а более тяжелых элементов – программы Mining FP Mid S. Точность определения оценивается исходя из приборной погрешности как при регистрации спектра, так и при его обработке по фундаментальным параметрам. Погрешности определения оценили следующими значениями, %: SiO₂ 7.2, K₂O 14.0, CaO 6.3, Al₂O₃ 2.8. Предлагаемые нами значения точности определения элементов рассчитаны из известного содержания элементов в стандартных образцах, изученных в работе [17], а также на основе данных [11]. Относительные стандартные отклонения составляют, %: SiO₂ 7.2, K₂O 14.0, CaO 6.3, Al₂O₃ 4.8, Sb₂O₃ 12.7, PbO 20.0, MnO 8.9, Fe₂O₃ 8.3. Полученные данные по содержаниям Si, K, Ca и других элементов пересчитывали в содержаниях оксидов по формулам: $\omega(SiO_2) = 2.1393\omega(Si)$, $\omega(K_2O) = 2.4092\omega(K), \ \omega(CaO) = 1.3992\omega(Ca),$ $\omega(PbO) = 1.0772\omega(Pb), \ \omega(Fe_2O_3) = 2.8594\omega(Fe),$ $\omega(Sb_2O_3) = 1.1971\omega(Sb), \ \omega(MnO_2) = 1.5567\omega(Mn).$

Натрий и магний в стеклах не определяли. Магний попадал в лавинское стекло преимущественно с поташом. Содержание MgO в поташе, полученном из березовой золы, можно оценить как 1.15% от содержания K_2O [18]. Отсюда следует, что в стеклах 1 группы в среднем содержится 0.2% MgO, в стеклах 2 группы — 0.1%. В стеклах 3 группы MgO больше, вплоть до 1% и более.

Оптические спектры стекол регистрировали на спектрометре Shimadzu UV-2600 (с интегрирующей сферой IRS-2600+) при длинах волн в диапазоне 350–1200 нм. Для записи спектров поглощения стекол в видимой области использовали шлифованные и полированные образцы с плоскопараллельными сторонами толщиной 2–4 мм, все спектры нормировали на толщину образца.

Для рентгеноспектрального микроанализа (**PCMA**) использовали растровый электронный микроскоп высокого разрешения LEO Supra 50 VP с автоэмиссионным источником (Carl Zeiss, Германия), систему микроанализа INCA Energy+ (Oxford Instruments, Великобритания), XPP-метод матричной коррекции. Параметры эксперимента: ускоряющее напряжение 20 кВ, разрешение EDX детектора 129 эВ на линии $MnK\alpha$, скорость счета до 100000 имп/с.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для изучения составов лавинского стекла методом РФА применяли портативный анализатор XMet7500 (Oxford Instruments, Великобритания).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Метод РФА позволяет получить подробную информацию о составе лишь поверхностного слоя образца, поэтому перед проведением эксперимента важно контролировать состояние поверхности: она не должна содержать следов загрязнений, быть по возможности плоской и гладкой [19]. В идеале измерения следует проводить на плоском свежем сколе. Тщательная шлифовка и полировка образца, с одной стороны, позволяет убрать продукты разрушения стекла (поверхностную пленку кремнезема) и загрязнения, с другой стороны, при действии влаги в процессе полировки поверхностный слой обедняется однозарядными катионами щелочных металлов, обладающими наибольшей подвижностью.

Правильность предложенного нами способа оценки содержания натрия в стеклах по разности (путем вычитания из целого суммы содержаний определенных в стекле оксидов) подтверждена сравнением результатов по некоторым лавинским стеклам с данными, полученными методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии. Рассчитано значение критерия Стьюдента *t*, которое меньше табличного значения для данных условий. Следовательно, расхождение результатов, полученных методами РФА и РСМА, носит случайный характер [20].

Ни один из указанных методов не позволяет определить содержащиеся в стекле микропримеси, из которых функциональной добавкой является кобальт, придающий стеклу заметную глазом синюю окраску даже при концентрации на уровне нескольких ррт. С целью обнаружения кобальта, вводимого в стекло с целью его окрашивания или с целью оптического обесцвечивания, мы дополнили арсенал методов исследования образцов оптической спектроскопией. Синее окрашивание стекол ионами кобальта(II) обусловлено интенсивным пиком при 600 нм, соответствующим разрешенному переходу ${}^{4}A_{2} - {}^{4}T_{1}(P)$ в хромофоре [СоО₄]. Полосы при 650 и 500 нм соответствуют двум спин-запрещенным переходам. Первая из них отнесена к двум переходам ${}^{4}A_{2}(F)$ - ${}^{2}T_{1}(G)$ и ${}^{4}A_{2}(F) - {}^{2}T_{2}(G)$, имеющим близкую энергию, а вторая – переходу ${}^{4}A_{2}(F) - {}^{2}T_{2}(G)$. В ближней ИК-области проявляется пик при 1260 нм, который относится к переходу $A_2 - T_1(F)$ [21]. На фоне этих пиков полосы d-d-переходов в октаэдрах [CoO₆] при 480–500 нм (⁴T_{1g}(F)– ⁴T_{1g}(P)), 550-560 нм (⁴T_{1g}(F)-⁴A_{2g}(F)) и 1000-1300 нм (⁴T_{1g}(F)-⁴T_{2g}(F)) практически не влияют на окраску в силу очень низкой интенсивности.

Метод оптической спектроскопии не только подтверждает сделанные на основании РФА выводы о присутствии в стекле тех или иных ионных красителей, но также позволяет качественно обнаружить кобальт даже при очень низком его содержании в образце. Ранее мы использовали данный метод для обнаружения в стеклах золота, содержащегося в виде наночастиц, по характерному поглощению, вызванному плазмонным резонансом [22].

Все исследованные находки представляют собой поташно-известковое стекло, в ряде образцов содержание натрия низкое. Большинство образцов оказалось устойчивым к атмосферным воздействиям. Стекла, найденные в песке, вообще не подверглись изменениям, даже на поверхности. Поверхность фрагментов стекол и изделий, хранившихся во влажной почве, была покрыта иризирующей пленкой, которую перед проведением анализа удаляли шлифовкой образца. Устойчивость стекол к выщелачиванию можно объяснить высоким содержанием в них оксида аюминия¹. По составу найденные образцы можно разделить на три группы:

■ Группа 1 — поташно-известковые стекла, многие образцы содержат добавки кобальта и сурьмы ("зеркальные" стекла);

■ Группа 2 — поташно-известковые стекла с добавлением соды или сурика, "оконишные круги" и некоторые изделия, полученные выдуванием ("посудные" стекла);

■ Группа 3 — зольная материя ("черкасские" стекла).

Стекла с высоким содержанием оксида алюминия, большинство из которых полностью или частично глушеные, отнесены к 4 группе. Стекла 1-3 групп отличаются по отношению CaO/K₂O (рис. 1).

Стекла группы 1 (табл. 1) многочисленны, они представляют собой фрагменты массивных зеркальных стекол, полученных литьем на плиту, а также эрклез (куски стекла со сколотыми острыми гранями) и некоторое количество фрагментов изделий (штофы). Стекла, полученные литьем, – прозрачные, бесцветные или чуть сероватые (№№ 10, 12, 29, 46), но чаще имеющие ярко выраженный характерный холодный оттенок – голубоватый (№№ 21, 28, 34, 47, 48), голубой, бирюзовый, особенно заметный при большой толщине образца (№№ 38, 40, 43, 50, 51). Одно стекло (№ 9) имеет очень бледный фиолетовый цвет.

По химическому составу стекла группы 1 характеризуются высоким содержанием калия (разброс 12.6–21.9%, среднее 16.7%) и низким содержанием оксида кальция (обычно около 4.9%, разброс 1.8–7.9%). Отношение K_2O/CaO составляет от 1.8 до 7.4 (среднее 3.7%). Это соответствует русской рецептуре середины XVIII в., известной нам по записке И. Ползунова [23], описывающей технологию варки на стеклянном заводе в Барнауле. Особенностью данной рецептуры являлось использование нелитрованного поташа, содержащего некоторое количество карбоната кальция,

¹ 1.4—5.0% Al₂O₃ в стеклах 1—3 групп и от 7.9 до 16.0% в стеклах 4 группы.



Рис. 1. Отношение K_2O/CaO в стеклах 1–3 групп.

что позволяло получать устойчивое к атмосферным воздействиям стекло без добавления в шихту мела или известняка. Это значение коррелирует с содержанием кальция в стеклах [24]. Кальций попадал в шихту в качестве примеси к поташу, поэтому чем чище был использовавшийся поташ, тем выше оказывалось отношение K₂O/CaO.

В богемском меловом стекле содержание оксида кальция составляет более 8%. Так, богемский хрусталь имеет состав (%) SiO₂ 76, K₂O 15, CaO 8, Al₂O₃ 1 [25, C. 50], а в богемском зеркальном стекле содержание СаО достигает 11% [25, С. 32]. Содержащееся в стеклах железо (Fe₂O₃, обычно 0.2-0.55%, в некоторых стеклах до 0.9%) при его содержании около 0.5% и выше (№№ 5, 9, 10, 23, табл. 1) оптически обесцвечено пиролюзитом (содержание MnO в стеклах до 1.4%), роль которого как раз и заключалась в обесцвечивании стекла, судя по практике его использования на других русских [26] и европейских заводах, современных лавинским [27, 28]. В стекла, содержащие менее 0.5% Fe₂O₃, пиролюзит не вводили. По данным оптической спектроскопии в стеклах преобладает железо(III): Fe(III)/Fe(II) = 5.5 - 12.5. среднее 10. Для сравнения приведем соотношение Fe(III)/Fe(II) в натрий-кальциевом стекле, сваренном в электропечи при 1400°С, которое составляет 7.3 при содержании Fe₂O₃ 1.6%. Однако теплый желтоватый оттенок, который железо(III) придает стеклу, здесь скрыт добавкой кобальта. Количество кобальта, присутствующего практически во всех стеклах этой группы, не удается оценить методом РФА. Присутствие в стеклах кобальта однозначно подтверждают оптические спектры образцов (рис. 2), имеющие характерные

пики в области 535, 590 и 645 нм [29]. О практике использования для маскирования слабого зеленоватого или желтоватого оттенка стекла кобальтовой "шмальты" упомянуто в книге [25, С. 61]. Это объясняется высоким коэффициентом поглощения иона кобальта(II) в тетраэдрическом окружении.

Таким образом, в большинстве стекол группы 1 для оптической нейтрализации естественной окраски, вызванной железом, использовали не только марганец, но и кобальт. Заметим, что поглощение ионов марганца в большинстве стекол закрыто полосами железа, и только в образце № 9, содержащем 1.4% MnO, проявляется характерный для марганца(II) пик в районе 430—440 нм. Характерно, что в спектре при этом отсутствует полоса поглощения марганца(III) при 490 нм, что можно трактовать как полное восстановление марганца как сурьмой, так и железом. Именно об этом говорит аномально низкое значение отношения Fe(III)/Fe(II) среди стекол этой группы, равное 5.5.

В большинстве зеркальных стекол этой группы присутствует сурьма в количестве 0.1-0.4%. В кварцевом песке содержание сурьмы в виде примеси оценивается несколькими ppm [30], поэтому найденное в стеклах этой группы количество Sb₂O₃ (до 0.4% Sb₂O₃) говорит о его намеренном введении в шихту [31]. Оксид сурьмы, используемый в стеклоделии еще со времени эллинизма, вводили в стекла для обесцвечивания, осветления стекла и в качестве глушителя. Для глушения стекол содержание в них оксида сурьмы должно превышать 1%, такие примеры в русском и европейском стекле XVIII века нам не-

Образец	Описание	Цвет	SiO_2	Na_2O	K_2O	CaO	Al_2O_3	Sb_2O_3	PbO	MnO	$\mathrm{Fe_2O_3}$	P_2O_5	TiO_2	Сумма	K ₂ O/CaO
1	Эрклез	Желто-зеленый	76.2	≤ 1	14.3	3.3	2.9	0.1	0.0	0.0	0.4	0.2	0.1	97.5	4.3
4	Фрагмент бутыли	Черно-коричневый	72.9	$\stackrel{\sim}{\sim}$	13.9	7.7	4.3	0.0	0.3	0.3	0.8	0.4	0.1	100.7	1.8
5	Эрклез	Зеленый	72.3	$\stackrel{<}{\sim}$	15.0	7.0	4.7	0.2	0.0	0.5	0.5	0.4	0.1	100.7	2.1
6	Эрклез	Серый	75.0	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	14.2	5.2	3.2	0.2	0.1	1.4	0.5	0.3	0.0	100.1	2.7
10	Оконное стекло	Серый	72.9	$\stackrel{<}{\sim}$	19.2	4.2	1.6	0.3	0.1	1.0	0.5	0.0	0.0	99.7	4.6
П	Фрагмент изделия	Серый	73.2	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	19.7	4.9	2.1	0.3	0.1	1.1	0.5	0.2	0.0	102.0	4.1
12	Эрклез	\mathbf{E}/\mathbf{u}	70.5	$\stackrel{\sim}{\sim}$	21.9	6.0	2.1	0.3	0.0	0.4	0.4	0.2	0.0	101.8	3.7
13	Эрклез	Серый	73.0	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	18.4	4.3	2.8	0.4	0.1	1.0	0.4	0.0	0.1	100.5	4.3
17	Эрклез	Зеленый	72.6	\sim	20.9	3.8	4.2	0.3	0.0	0.1	0.6	0.3	0.1	102.8	5.6
21	Эрклез	Бледно-зеленый	75.0	$\stackrel{\sim}{\sim}$	14.5	5.0	3.9	0.3	0.0	0.3	0.4	0.5	0.0	100.0	2.9
23	Эрклез	Бирюзовый	76.1	$\stackrel{<}{\sim}$	16.2	5.0	4.2	0.1	0.0	0.2	0.9	0.0	0.2	103.0	3.2
27	Эрклез	Голубой	75.8	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	18.3	5.7	2.0	0.0	0.0	0.1	0.4	0.2	0.0	102.6	3.2
28	Эрклез	Голубой	71.7	$\stackrel{\sim}{\sim}$	17.3	3.3	6.2	0.1	0.0	0.0	0.9	0.0	0.2	99.7	5.3
29	Эрклез	Голубой	73.4	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	19.6	3.8	3.6	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.1	100.9	5.1
30	Плоское стекло	Голубой	76.1	$\stackrel{\scriptstyle \frown}{\scriptstyle \sim}$	16.4	2.7	2.1	0.2	0.0	0.0	0.3	0.2	0.0	98.1	6.0
31	Плоское стекло	Голубой	76.5	\sim	15.9	2.9	1.7	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	97.3	5.5
32	Плоское стекло	Голубой	71.4	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	21.0	6.5	3.3	0.1	0.0	0.0	0.2	0.2	0.0	102.8	3.2
33	Плоское стекло	Голубой	73.5	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	19.8	4.9	1.6	0.2	0.0	0.0	0.2	0.2	0.0	100.6	4.0
34	Эрклез	Голубой	77.5	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	13.1	5.8	3.6	0.2	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	100.6	2.3
35	Эрклез	Сине-голубой	72.2	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	21.7	5.2	2.9	0.3	0.0	0.1	0.4	0.3	0.1	103.0	4.2
36	Эрклез	Голубой	73.2	$\stackrel{<}{\sim}$	18.0	5.9	1.4	0.3	0.0	0.1	0.3	0.0	0.0	99.2	3.1
38	Эрклез	Голубой	76.2	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	13.4	4.5	2.2	0.3	0.0	0.1	0.5	0.5	0.0	97.6	3.0
40	Эрклез	Синий	76.1	$\overline{\sim}$	13.5	2.8	3.4	0.2	0.0	0.1	0.5	0.2	0.1	96.8	4.8
43	Плоское стекло	Голубой	73.9	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	16.4	4.6	3.0	0.3	0.0	0.0	0.3	0.2	0.1	98.8	3.6
45	Плоское стекло	Голубой	75.6	\sim	14.3	3.2	3.8	0.3	0.0	0.0	0.3	0.2	0.0	97.8	4.4
46	Плоское стекло	Бледно-голубой	77.4	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	13.4	1.8	3.3	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	96.0	7.4
47	Плоское стекло	Голубой	75.8	\sim	15.3	3.6	3.8	0.0	0.1	0.0	0.2	0.0	0.1	98.8	4.3
48	Эрклез	Синий	75.6	$\stackrel{\sim}{\sim}$	15.1	3.2	3.0	0.2	0.0	0.1	0.5	0.3	0.1	98.2	4.7
50	Эрклез	Голубой	75.9	$\overline{\nabla}$	16.9	4.6	2.0	0.4	0.0	0.0	0.4	0.2	0.0	100.5	3.7
51	Литое стекло	Голубой	73.7	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	20.0	6.0	2.3	0.3	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	102.6	3.3
53	Капля	Розовый	73.8	$\overline{\nabla}$	17.6	7.9	1.8	0.0	0.2	0.5	0.3	0.0	0.0	102.1	2.2
И-01	Литое стекло	\mathbf{E}/\mathbf{I}	74.0	$\stackrel{\sim}{\sim}$	18.6	5.6	2.3	0.3	0.0	0.2	0.2	0.0	0.1	101.3	3.3
И-03	Литое стекло	\mathbf{E}/\mathbf{u}	72.7	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	19.2	6.6	2.6	0.2	0.0	0.3	0.3	0.2	0.1	102.3	2.9
И-04	Литое стекло	Бледно-синий	74.3	$\stackrel{\sim}{\sim}$	15.4	7.5	1.7	0.3	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	99.4	2.1
И-09	Тянутая трубка	Голубой	72.3	$\stackrel{<}{\sim}$	16.2	5.9	2.8	0.0	1.1	0.0	0.9	0.3	0.0	99.4	2.8
И-10	Ллитое стекло	Серый	69.8	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	19.8	5.7	2.3	0.2	0.0	1.2	0.4	0.3	0.0	99.7	3.4
И-11	Фрагмент штофа	Бледно-голубой	76.5	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	16.6	6.2	1.6	0.0	0.1	0.1	0.2	0.2	0.0	101.4	2.7
И-19	Фрагмент штофа	Голубой	74.0	\sim	16.4	6.8	3.6	0.0	0.8	0.2	0.3	0.0	0.0	102.0	2.4
И-20	Литое стекло	${\rm E}/{\rm u}$	72.4	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	19.0	6.6	2.6	0.2	0.0	0.2	0.2	0.0	0.0	101.3	2.9
И-21	Литое стекло.	E/II	74.1	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	13.7	6.3	4.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.2	0.0	98.5	2.2
И-22	Горло штофа	Ярко-синий	75.0	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	14.0	3.9	2.3	0.0	0.1	0.1	0.6	0.2	0.1	96.2	3.6
И-27	Горло сосуда	Бирюзовый	75.4	$\stackrel{\sim}{\sim}$	14.5	2.8	2.8	0.0	0.5	0.1	0.2	0.2	0.1	96.6	5.3
И-28	Ножка бокала	Бирюзовый	75.5	$\stackrel{\sim}{\sim}$	13.8	3.9	3.5	0.1	0.3	0.2	0.4	0.3	0.1	97.9	3.5
И-29	Поддон бокала	Бирюзовый	76.4	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	12.6	3.9	3.0	0.1	0.2	0.1	0.4	0.3	0.1	96.9	3.3
И-34	Основание бутыли	$\mathrm{B/u}$	74.6	<1	14.7	5.6	2.4	0.0	0.1	0.1	0.2	0.0	0.1	97.8	2.6

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 11 2021

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТАВА СТЕКОЛ

981



Рис. 2. Оптический спектр поглощения образца № 21.

известны. Можно предположить, что часть кальция попадала в стекло вместе с кварцевым песком. Так, песок карьера на реке Коваши (Ломоносовский район Ленинградской области) содержит 54-68% SiO₂, 10-13.8% гранита, 7-8% полевого шпата, 6-8% СаСО₃ и 1.2–2% кремнистых пород. Известно, что при содержании Sb₂O₃ в стекле менее 1% он служит наряду с оксидами мышьяка и марганца для обесцвечивания стекла благодаря восстановлению железа(III) до железа(II) [32, 33]. Выше указано, что многие стекла первой группы помимо сурьмы содержат еще и марганец. Введение сурьмы исключительно в шихту для оконного и зеркального стекол свидетельствует об иной цели ее использования – осветления стекломассы, т.е. удаления из нее пузырьков газов. Именно с такой целью оксид сурьмы применяют и в современном

стеклоделии [34]. Присутствующие в стекле газовые включения значительно ухудшают качество толстого листового стекла ("цесарской зеркальной материи"), получаемого отливкой стекломассы на металлическую плиту. Такие "чугунные доски" известны нам по заводам, принадлежавшим Меньшикову [26]. Можно предположить, что стекла данной группы редко использовали для выработки изделий. Возможно, это связано с тем, что сурьма ("антимоний") не имелась на заводе в достаточном количестве. В Приходно-расходной книге Жабинских стеклянных заводов [26] "антимоний" вообще не упоминается. Повидимому, не использовали его и на Ямбургских заводах. В упомянутой описи среди материалов указан "мышьяк" (белый мышьяк, т.е. оксид мышьяка), который не обнаружен нами в стеклах,

Таблица 2. Составы стекол 2 группы

Обра- зец	Описание	Цвет	SiO ₂	Na ₂ O	K ₂ O	CaO	Al ₂ O ₃	Sb ₂ O ₃	PbO	MnO	Fe ₂ O ₃	P ₂ O ₅	TiO ₂	Сумма	K ₂ O/ CaO
25	Литое стекло	Бирюзовый	81.6	<1	6.1	7.1	2.4	0.0	1.3	0.3	0.4	0.0	0.1	99.4	0.9
26	Литое стекло	Бирюзовый	82.7	5.0	4.0	3.8	3.1	0.0	0.0	0.0	0.6	0.1	0.1	99.5	1.1
44	Фрагмент диска*	Светло- зеленый	73.7	5.0	5.5	9.2	3.8	0.0	0.1	0.4	0.9	0.5	0.1	99.2	0.6
62	Фритта	Белый	77.1	<1	11.0	7.3	3.6	0.1	0.2	0.2	0.3	0.0	0.1	99.9	1.5
И-05	Фрагмент диска*	Бирюзовый	79.1	6.0	8.3	3.0	1.9	0.0	0.0	0.0	0.3	0.4	0	99.0	2.8
И-06	Фрагмент штофа	Светло- зеленый	72.4	<1	10.8	8.9	4.2	0.0	1.6	0.6	0.5	0.6	0	99.7	1.2
И-31	Тянутая нить	Б/ц	82.5	4.0	5.4	4.1	2.9	0.2	0.0	0.2	0.2	0	0.1	99.6	1.3

* Стекло, выдутое лунным способом ("оконишный круг").

найденных на Лаве. Исключение составляет донце круглой бутыли (№ И-34) из бесцветного стекла, в котором отсутствует сурьма, но содержится 0.6% As₂O₃. Первое известное нам упоминание "антимония" в русских письменных источниках по стекловарению относится к 1755 г., когда он был указан И.И. Ползуновым в Записке о стекловарении на Барнаульском стекольном заводе [23].

К стеклам первой группы могут быть отнесены и единичные изделия — нижние части штофов, полученные выдуванием в форму. Интересно, что для их производства использовали стекло, хотя и близкое по составу к стеклам первой группы, но не содержащее сурьмы.

Количество кобальта в стеклах 1 группы оказалось ниже предела обнаружения методом РФА и по нашим оценкам, исходя из заметной глазу бледно-голубой окраски, составляет примерно 2–3 ppm. Возникает вопрос о способе введения в зеркальное стекло столь небольших количеств кобальта. При введении его в форме оксида СоО его потребовалось бы всего 0.2 г на горшок. содержащий 200 кг стекла. Такой аптекарской точности вряд ли можно было достичь в заводских условиях. В описи материалов Жабинского завода [26] кобальт не упоминается, однако рядом с "марганесом", т.е. пиролюзитом, приведен "маргозит", т.е. минерал марказит, представляющий собой соединение железа с серой. Его использование в стекловарении на первый взгляд кажется странным. В древности пирит и марказит использовали для высекания огня. Сведениями о применении марказита для этих целей в XVIII веке мы не располагаем. Задача ввести в стекло для зеркал железо и серу перед технологами никогда не стояла, они испокон веков решали обратную задачу - избавиться от этих нежелательных элементов. Марказит интересен тем, что в качестве примеси часто содержит до 6600 ррт кобальта [35] или даже до 3-4% [36]. Для создания концентрации 2 ррт кобальта в стекле в горшок для варки 200 кг стекла надо ввести 200 г марказита, содержащего 0.2% (2000 ррт) Со. Отвесить указанное количество не представляет труда. Одновременно в стекло попадет примерно 100 г железа, что соответствует увеличению количества Fe₂O₃ в стекле всего на 0.07%. Такая добавка железа не будет заметна на фоне его поступления в стекло из иных источников при составлении стеклянной материи – песка и золы.

Другими примесями в марказите [35, 36] могут быть свинец (до 1.2%) и мышьяк (до 8%), а также сурьма (до 660 ppm), количество которой в этом минерале при использовании его как источника кобальта оказывается во много раз ниже, чем обнаруженные количества сурьмы в стеклах 1 группы. Стекла первой группы соответствуют по составу рецептам кварцевой и песчаной материи в записке Ползунова ("Поташу – 3 пуда, песку – 3 пуда 10 фунтов, антимонии – 46 золотников" или "Поташу – 3 пуда, кварцу – 3 пуда 10 фунтов, антимонии – 46 золотников" [23]). В некоторых образцах 1 группы содержатся небольшие добавки оксида свинца (0.1–1.1% PbO). В польском "белом" стекле XVIII века по данным [27, табл. 6] может содержаться до 1.5% PbO.

Среди находок на месте лавинских заводов практически не встречаются цветные стекла, окраска которых создана намеренным введением красителей. Так. при использовании марганиа для обесцвечивания ни одного стекла, окрашенного марганцем в фиолетовый цвет, не найдено. Все это свидетельствует об отсутствии интереса к цветному стеклу при создании высоко художественных изделий. Исключение составляют синие кобальтовые стекла, представленные единичными находками эрклеза и фрагмента горла штофа (№ И-22) интенсивно синего цвета, также относящегося по составу к первой группе. Кобальтовое стекло упоминается и в цитируемой Н.А. Ашариной описи Жабинских заводов 1717 г. [16, С. 312]. Некоторые предметы из музейных коллекций: чайник (Государственный Русский музей, 1730-е гг., инв. ст43) и кубок (Государственный музей керамики "Кусково', 1740-1750-е гг., инв. ст2974) по оттенку стекла голубого цвета визуально соответствуют некоторым лавинским стеклам первой и второй групп. Источником кобальта в этом случае служит не марказит, а, по-видимому, оксид, полученный прокаливанием смальтита [Co,Ni]As₂₋₃, о чем свидетельствует присутствие в нем мышьяка $(0.1\% \text{ As}_2\text{O}_3)$ [37], не обнаруженного в других лавинских стеклах. Это соответствует изученным ранее усть-рудицким смальтам 1750-1760-х гг. [38, 39], в которых содержание кобальта коррелирует с содержаниями никеля и мышьяка.

Отметим также относящиеся к 1 группе несколько образцов цветного стекла: окрашенные железом в желтый ($\mathbb{N} \mathbb{N} \mathbb{N} \mathbb{N}$ И-01 и 17, окраска вызвана хромофором Fe–S, пик при 410 нм) и даже в черный, в тонком слое в желто-коричневый цвет ($\mathbb{N} \mathbb{N} \mathbb{I}$ -03, Fe₂O₃ 0.8%).

Вторая группа представлена немногочисленными находками. Это остатки "оконишных кругов", полученных лунным способом, и несколько осколков изделий ($\mathbb{N} \mathbb{N} \mathbb{N}$ И-02, И-06, И-08, И-15). В стеклах этой группы содержится от 4 до 11% K₂O (среднее 7.3%) и 3–9% CaO (среднее 6.2%). Отношение K₂O/CaO в большинстве описываемых стекол близко к единице, хотя колеблется от 0.6 до 2.8. При составлении материи мастер исходил из того, что изделия будут выдувать. Для этого лучше подходят более легкоплавкие и "длинные" стекла. Именно с этим мы связываем введение в них небольших количеств соды (содержание натрия оценено по методике [17]) и свинца (до 1.3%

3. Составы стекол 3 группы	3 группы													
Описание Цвет SiO ₂ Na ₂ O	Цвет SiO ₂ Na ₂ O	SiO ₂ Na ₂ O	Na ₂ O	K_2O	CaO	Al_2O_3	Sb_2O_3	PbO	MnO	$\mathrm{Fe}_{2}\mathrm{O}_{3}$	P_2O_5	TiO ₂	Сумма	K ₂ 0 CaC
Фрагмент изделия Желтый 59.7 <1	Желтый 59.7 <1	59.7 <1	≤ 1	10.8	22.0	5.3	0.0	0.1	1.9	1.1	2.4	0.1	103.5	0.5
Фрагмент изделия Черный 57.2 <1	Черный 57.2 <1	57.2 <1	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	11.6	24.8	3.8	0.0	0.0	1.8	3.7	0.5	0.2	103.5	0.5
Эрклез Бледно-зеленый 70.3 <1	Бледно-зеленый 70.3 <1	70.3 <1	\leq	9.8	10.5	4.1	0.0	0.6	1.3	0.8	1.2	0.1	98.6	0.9
Обрезок стекла Зеленый 70.1 <1	3еленый 70.1 <1	70.1 <1	\sim	8.7	15.0	4.7	0.0	0.3	0.6	2.1	0.5	0.1	102.1	0.6
Литое стекло Зеленый 64.7 <1	Зеленый 64.7 <1	64.7 <1	\sim	8.7	20.4	4.5	0.0	0.4	1.4	1.3	1.8	0.1	103.3	0.4
Фрагмент изделия Светло-зеленый 64.5 <1	Светло-зеленый 64.5 <1	64.5 <1	$\stackrel{\scriptstyle <}{\sim}$	7.8	19.9	5.0	0.0	1.4	1.5	0.9	1.8	0.1	102.9	0.4
Фрагмент изделия Зеленый 68.1 <1	3еленый 68.1 <1	68.1 <1	\leq 1	8.8	12.8	4.9	0.1	0.0	0.9	2.3	1.1	0.2	99.2	0.7
Нижяя часть стоп Светло-зеленый 63.6 <1	Светло-зеленый 63.6 <1	63.6 <1	\sim	10.6	13.9	3.8	0.0	0.4	1.6	0.7	1.4	0	96.1	0.8
Фрагмент штофа Желто-оливковый 67.1 <1	Желто-оливковый 67.1 <1	67.1 <1	\sim	9.3	17.9	4.4	0.0	0.8	1.2	0.7	1.1	0	102.6	0.5
Горло бутыли Зеленый 65.9 <1	Зеленый 65.9 <1	65.9 <1	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	14.3	16.4	3.4	0.0	0.2	0.6	1.2	0.0	0	10.0	0.9
Тянутая лента Зеленый 69.4 <1	3еленый 69.4 <1	69.4 <1	\sim	5.9	17.5	4.0	0.0	0.1	0.6	1.4	0.9	0.3	100.1	0.3
Фрагмент изделия Зеленый 72.4 <1	Зеленый 72.4 <1	72.4 <1	\sim	8.0	14.9	2.9	0.0	0.2	0.0	1.0	0.2	0.2	99.7	0.5
Фрагмент бутыли Зеленый 68.5 <1	Зеленый 68.5 <1	68.5 <1	$\stackrel{<}{\sim}$	2.6	21.2	6.7	0.0	0.0	0.6	1.7	0.0	0.2	101.5	0.1
Фрагмент стопы Светло-зеленый 70.1 <1	Светло-зеленый 70.1 <1	70.1 <1	\sim	11.6	12.1	5.7	0.0	0.4	0.6	0.6	0.0	0	101.1	1.0
Фрагмент штофа Светло-зеленый 66.5 <1	Светло-зеленый 66.5 <1	66.5 <1	<1	11.1	18.9	3.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	99.8	0.6
Фрагмент штофа Зелено-оливковый 66.4 <1	Зелено-оливковый 66.4 <1	66.4 <1	\sim	8.1	18.3	5.5	0.1	1.1	1.4	0.8	0.9	0	102.7	0.4
Литое изделие Желто-коричневый 65.9 <1	Желто-коричневый 65.9 <1	65.9 <1	\sim	7.1	19.7	7.1	0.0	0.0	1.1	0.6	0.9	0	102.4	0.4
Горло бутыли Зеленый 69.4 <1	Зеленый 69.4 <1	69.4 <1	<1	7.2	12.5	6.9	0.0	0.0	0.9	1.3	9.0	0.2	99.0	0.6

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 11 2021

984

ДРОЗДОВ и др.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТАВА СТЕКОЛ

Cymma CaO	03.4 1.4	03.1 0.4	00.8 0.8	99.5 0.6	35.5 1	00.8 0.7	98.6 1.4
TiO ₂	0.9 1	0.4 1	0.3 1	0.2	0.1	0.3 1	0.3
P_2O_5	0.4	0.0	0.7	0.1	0	0.2	0
Fe ₂ O ₃	2.1	1.3	1.3	0.6	0.3	1.2	1.1
MnO	1.0	0.9	0.6	0.6	0.4	0.3	0.4
PbO	0.0	0.1	0.0	0	0	0	0.7
Sb ₂ O ₃	0	0	0	0	0	0	0
Al ₂ O ₃	16.1	12.0	7.9	5.0	4.4	10.3	9.6
CaO	8.4	17.4	10.4	10.7	5.7	7.9	6.6
K ₂ 0	12.1	6.3	8.0	6.4	5.7	5.7	9.2
Na ₂ O	≤ 1	$\overline{\lor}$	$\stackrel{\scriptstyle \sim}{\sim}$	$\overline{\sim}$	$\stackrel{\checkmark}{\sim}$	Ś	$\overline{\nabla}$
SiO ₂	62.3	64.0	71.4	75.9	78.9	6.9	70.7
Цвет	Коричневый на просвет, голубой в отраженном свете	Белый, неоднородный, с коричне- выми прожилками	Белый, коричнево-голубые нити, неоднородное	Опаловый, желтый на просвет, голубой в отраженном свете	Желтый на просвет, голубой в отраженном свете	Слабо-опаловый, желто-коричне- вый на просвет, голубой в отра- женном свете	Слабо-опаловый, желтый на про- свет, голубой в отраженном свете
Описание	Слезка	Толстые нити	Толстые нити	Слезка	Слезка	Фрагмент стекла	Фрагмент тянутой нити
Образец	8	55	56	И-23	И-24	И-25	И-35

PbO). Березовая зола и выделяемый из нее поташ содержат всего около 0.2% Na₂O, поэтому содержание натрия, оцениваемое нами по разности согласно методике [17], в них мало. Исключение составляют несколько изделий (№№ И-06, И-08, И-15. И-26), в которых содержание оксида натрия оценивается от 1 до 8%, т.е. можно предположить намеренное добавление соды. В приходно-расходной книге Жабинских заводов за 1730 г. в числе материалов указано значительное количество "суды", т.е. соды. Введение небольшого количества соды, так же как и оксида свинца, допускалось при изготовлении "тафельной" материи, из которой выдуванием получали посуду. Эти добавки делали материю более "длинной", что облегчало работу стеклодува. О введении небольших количеств PbO в стекла, предназначенные для выработки посуды, упомянуто и в книге [25, C. 611.

В некоторые стекла для "оконишных кругов" (некоторые из них по содержанию K_2O соответствуют образцам 1 группы) вводили кобальт для придания им слабого голубоватого оттенка. Стекла, не содержащие кобальта, имеют бледно-зеленый цвет (что соответствуют их выработке из стекла, сваренного из плохо очищенного поташа). Такая же окраска, более интенсивная в толстом слое, характерна и для большинства изделий, отнесенных к этой группе.

Третья группа стекол представлена фрагментами изделий и эрклезом. Это стекла различных оттенков зеленого цвета, реже - коричневые и даже практически черные, называемые "черкасской материей". Содержание в них К₂О колеблется от 2.6 до 14.3% (среднее 9.0), а СаО от 10.5 до 24.8% (среднее 17.1). Отношение K₂O/CaO составляет 0.1-1.0 (среднее 0.6), что соответствует "зольной материи" в записке Ползунова, которую приготавливали с использованием смеси поташа и березовой золы ("Поташу 2 пуда 20 фунтов, золы березовой 1 пуд 10 фунтов, песку – 3 пуда 30 фунтов. Итого – 7 пудов 20 фунтов" [23]). В отличие от других групп, в них наблюдается корреляция между содержаниями железа и марганца (Fe₂O₃/MnO составляет 0.6-1.0) и в отношении K₂O/MnO, которое можно аппроксимировать прямой. Все это говорит о том, что содержащийся в стеклах этой группы марганец попадал в них вместе с растительным флюсом, а не вводился направленно. В стеклах 1 и 2 групп такие закономерности не прослеживаются, что доказывает направленное введение оксида марганца в шихту в качестве добавки. Высокое содержание оксида кальция в стеклах третьей группы позволяет предположить использование дешевого сырья, а именно нелитрованного поташа, содержащего значительную примесь карбоната кальция. Об этом свидетельствует и повышенное

содержание оксида фосфора (0.5–2.5%) по сравнению со стеклами других групп.

Отдельную группу (группа 4) находок представляют собой каплевидные "слезки" и беспорядочно сплавленные нити (№№ 8, 55, 56, И-23, И-24, И-25, И-35), образованные из вязкой стекловидной, глушеной, но неоднородной по цвету и прозрачности массы, визуально напоминающей частично наведенное цинк-сульфидное силикатное стекло. Они состоят из поташно-известкового стекла с повышенным содержанием оксила алюминия (8-10% Al₂O₃), возможно, случайно попавшего в стекломассу или намеренно введенного в нее в виде глины. Некоторые стекла получены из золы, другие – из поташа, т.е. могут быть отнесены к 3 и 2 группам. Ввиду повышенного содержания алюминия стекломасса стала более вязкой и тугоплавкой, перемешать ее было невозможно (этим вызвана неолноролность стекла, хорошо заметная невооруженным глазом). По причине высокой вязкости эти стекла не удалось выработать в изделия, их можно было только вытянуть из печи, отсюда и витиеватая форма находок. Благодаря высокому содержанию оксида алюминия обсуждаемые стекла заглушены, они рассеивают свет ("В некоторых случаях Al₂O₃ в виде чистой глины вводится в стекло с целью уничтожения прозрачности его" [40, С. 28]). Образцы № 08 и № 56 содержат марганец и, судя по их окраске, небольшое количество кобальта, как и в некоторых других стеклах группы 2. Сурьмы в них нет. Можно предположить, что данные образцы представляют собой шквары, т.е. стеклянную массу, вытекающую из трещин горшков [25, С. 61]. Наряду со стеклобоем, ее добавляли в шихту при варке стекла. Благодаря высокому содержанию оксида алюминия образцы стекол данной группы близки по составу раннему севрскому фарфору (72-78% SiO₂, 11-17% CaO, 5-8% R₂O, R = Na, K [41, C. 79]), что не исключает использование их для пластического формования мелких изделий в глиняных формах. К этой же группе образцов относятся и небольшие вытянутые капли с различной степенью заглушенности, некоторые из которых, благодаря релеевскому рассеянию, имеют разную окраску в проходящем (желтоватая) и отраженном (голубоватая) свете. Еще один известный по записке И.И. Ползунова вид стеклянной материи - "хрустальная материя" - представлен находкой одного образца кобальтового стекла, содержащего 23% РЬО. Свинцовые стекла, производимые на Лаве и Назье, будут рассмотрены в наших следующих публикациях.

Проведенное нами изучение фрагментов стекол и изделий, найденных на месте их производства, позволяет не только охарактеризовать продукцию Лавинских заводов, но и открывает возможность выявить предметы лавинского стекла в музейных собраниях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Henderson J. Ancient Glass. An Interdisciplinary Approach. Cambridge: Cambridge university press, 2013. 433 p.
- Henderson J. Tradition and experiment in first millennium A.D. Glass production the emergence of early islamic glass technology in late antiquity // Acc. Chem. Res. 2002. V. 35. № 8. P. 594. https://doi.org/10.1021/ar0002020
- 3. De Raedt I., Janssens K., Veeckman J., Vincze L., Vekemans B., Jeffries T.E. Trace analysis for distinguishing between Venetian and Fac on-de-Venise glass vessels of the 16th and 17th century // J. Anal. At. Spectrom. 2001. V. 16. P. 1012.

https://doi.org/10.1039/B102597J

- Галибин В.А. Состав стекла как археологический источник. СПб: Петербургское востоковедение, 2001. 216 с.
- Janssens K. Modern Methods for Analysing Archaeological and Historical Glass 1. Hoboken: John Wiley and Sons, Ltd., 2013. P. 746. https://doi.org/10.1002/9781118314234.ch31
- 6. *Mirti P., Pace M., Negro Ponzi M., Aceto M.* ICP–MS analysis of glass fragments of parthian and sasanian epoch from Seleucia and Veh Ardašir (central Iraq) // Archaeometry. 2008. V. 50. № 3. P. 429. https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.2007.00344.x
- Mirti P., Pace M., Malandrino M., Negro Ponzi M. Sasanian glass from Veh Ardašīr: new evidences by ICP-MS analysis // J. Archaeol. Sci. 2009. V. 36. № 4 P. 1061. https://doi.org/10.1016/j.jas.2008.12.008
- Gulmini M., Pace M., Ivaldi G., Negro Ponzi M., Mirti P. Morphological and chemical characterization of weathering products on buried Sasanian glass from central Iraq // J. Non-Cryst. Solids. 2009. V. 355. № 31– 33. P. 1613.

https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2009.05.056

- 9. Егорьков А.Н. К вопросу использования кобальта в производстве древнерусского свинцового стекла // Записки института материальной культуры РАН. 2020. № 23. С. 144. https://doi.org/10.31600/2310-6557-2020-23-144-152
- Colomban Ph. Raman spectrometry, a unique tool to analyze and classify ancient ceramics and glasses // Appl. Phys. A. 2004. V. 79. P. 167. https://doi.org/10.1007/s00339-004-2512-6
- 11. *Ichikawa S., Matsumoto T., Nakamura T.* X-ray fluorescence determination using glass bead samples and synthetic calibration standards for reliable routine analyses of ancient pottery // Anal. Methods. 2016. V. 8. P. 4452.

https://doi.org/10.1039/C6AY01061J

12. *Ichikawa S., Nakamura T.* Solid sample preparations and applications for X-ray fluorescence analysis / Encyclopedia of Analytical Chemistry / Ed. Meyers R.A. Hoboken: John Wiley & Sons, Ltd., 2016. P. 2188. https://doi.org/10.1002/9780470027318.a9562

- Бахтиаров А.В., Савельев С.К. Рентгенофлуоресцентный анализ минерального сырья. СПб.: Издво С.-Петербургского университета, 2014. С. 132.
- 14. Дроздов А.А. О производстве стекла на Лавинских заводах // Исторический журнал: научные исследования. 2020. № 6. С. 159. (*Drozdov A*. Glass production on the Lava factories // History Magazine: Researches. 2020. № 6. Р. 159.) https://doi.org/10.7256/2454-0609.2020.6.34227
- 15. *Цейтлин М.А.* Казенные (императорские) "стеклянный" и зеркальный заводы в Санкт-Петербурге / Сборник научных трудов Ленинградского финансово-экономического института. № 5. Л., 1948. С. 145.
- 16. *Ашарина Н.А.* Русское стекло XVII-начала XX в. М.: Галарт, 1998. С. 312
- Дроздов А.А., Андреев М.Н., Бычков Е.Д., Ратников Д.С. Определение состава исторических стекол с использованием портативного рентгенофлуоресцентного анализатора // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2020. Т. 86. № 11. С. 13. (Drozdov A.A., Andreev M. N., Bychkov E.D., Ratnikov D.S. Determination of the elemental composition of historical glasses using a portable X-ray fluorescence analyzer // Industrial Laboratory. Diagnostics of Materials. 2020. V. 86. № 11. Р. 13.) https://doi.org/10.26896/1028-6861-2020-86-11-13-19
- Cílová Z., Woitsch J. Potash A key raw material of glass batch for Bohemian glasses from 14th–17th centuries? // J. Archaeol. Sci. 2012. V. 39. P. 371. https://doi.org/10.1016/j.jas.2011.09.023
- 19. Cox G.A., Pollard A.M. X-ray fluorescence analysis of ancient glass: The importance of sample preparation // Archaeometry. 1977. V. 19. № 1. P. 45.
- Лосев Н.Ф., Смагунова А.Н. Основы рентгеноспектрального флуорецентного анализа. М.: Химия, 1982. 208 с.
- 21. *Keppler H*. Crystal field spectra and geochemistry of transition metal ions in silicate melts and glasses // American Mineralogist. 1992. V. 77. P. 62.
- 22. *Андреев, М.Н.* Влияние микро- и макрокомпонентов на окраску силикатных стекол. Дис. ... канд. хим. наук. Москва: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2020. 179 с.
- 23. Государственный архив Алтайского края (ГААК), ф.1, оп. 1, дело 193, листы 61–66.
- 24. *Paynter S.* Clarity and brilliance: antimony in colourless natron glass explored using Roman glass found in Britain // Archeol. Anthropol. Sci. 2019. V. 11. P. 1533. https://doi.org/10.1007/s12520-017-0591-5
- Стеклянное производство / Под ред. Менделеева Д.И. СПб: Издание товарищества "Общественная польза", 1864. 374 с.
- 26. Приходно-расходная книга Жабинских заводов. Опись №51. дело № 1713. С. 197 / 150 лет Никольско-Бахметевского хрустального завода князя А.Д. Оболенского: описание истории завода и краткий очерк о развитии стекольного дела в России. СПб: Издание постоянного бюро съездов стеклозаводчиков, 1914. 258 с.
- 27. Kunicki-Goldfinger J.J., Kierzek J., Małożewska-Bućko B., Dzierżanowski P. Szkło naczyniowe z Huty Kryształowej

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 11 2021

pod Lubaczowem na tle szkła okresu baroku w Europie Środkowej: Technologia, atrybucja, datowanie // Raporty IChTJ. Seria B. 2018. № 3. P. 59.

- 28. Курлович П.С., Чубур А.А., Гурьянов В.Н., Кузнецов С.В., Лукша Е.И. Итальянская гута и ее место в истории гутного промысла Восточной Европы (предварительные результаты комплексного исследования) // Ежегодник НИИ фундаментальных и прикладных исследований Брянского государственного университета. 2017. Т. 1. № 9. С. 95.
- Fornacelli C., Ceglia A., Bracci S., Vilarigues M. The role of different network modifying cations on the speciation of the Co²⁺ complex in silicates and implication in the investigation of historical glasses// Apectrochim. Acta Part A. 2018. V. 188. P. 507. https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.07.031
- Brems D., Degryse P. Trace element analysis in provenancing roman glass-making // Archaeometry. 2014. V. 56. Suppl. 1. P. 116. https://doi.org/10.1111/arcm.12063
- 31. *Freestone I.C., Stapleton C.P.* Composition, technology
- and production of coloured glasses from Roman world, In: Glass of the Roman World. Oxford: Oxbow Books, 2015. P. 61.
- 32. Schreurs, J.W.H., Brill R. Iron and sulfur related colors in ancient glasses // Archeometry. 1984. V. 26. № 2. P. 199.
 - https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.1984.tb00334.x
- Chen T.Y., Rautiyal P., Vashnav S., Gupta G., Schlegl H., Dawson R.J., Evans A.W., Kamali S., Johnson J.A., Johnson C.E., Bingham P.A. Composition-structureproperty effects of antimony in soda-lime-silica glasses // J. Non-Cryst. Solids. 2020. V. 544. P. 120184. https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2020.120184
- 34. Singkiburin N., Srisittipokakun N., Keawkhao J. Effect of antimony(III) oxide on reduction of bubbles from

glass melting process // J. Phys.: Conf. Ser. 2020. V. 1428. P. 012030.

https://doi.org/10.1088/1742-6596/1428/1/012030

- 35. Duchesne J.C., Rouhart C., Schoumacher C., Dillen H. Thallium, nickel, cobalt and other trace elements in iron sulfides from Belgian lead-zinc vein deposits // Mineralium Deposita. 1983. V. 18. P. 303. https://doi.org/10.1007/BF00206481
- Ixer R.A., Stanley C.J., Vaughan D.J. Cobalt-, nickel-, and iron-bearing sulpharsenides from the North of England // Mineralogical Magazine. 1979. V. 43. P. 389. https://doi.org/10.1180/minmag.1979.043.327.11
- Gratuze B., Soulier I., Barrandon J.-N., Foy D. The origin of cobalt blue pigments in French glass from the thierteenth to the eighteenth centuries / Trade and Discovery: The Scientific Study of Artefacts from Postmedieval Europe and beyond / Eds. Hook D.R., Gaimster D.R.M., London: British Museum Press, 1995. P. 326.
- 38. *Андреев М.Н., Дроздов А.А., Краснобров В.Д.* Комплексное исследование состав и микроструктуры исторических стекол // Вестн. Моск. ун-та. Серия 2: Химия. 2019. Т. 60. № 6. С. 435–446.
- 39. Дроздов А.А., Долженко В.Д., Андреев М.Н., Лунин В.В. Технология производства смальтовых стекол на Усть-рудицкой фабрике М.В. Ломоносова // Вестн. Моск. ун-та. Серия 8: История. 2019. № 5. С. 140–158.
- 40. Петухов С.П. Стеклоделие: Руководство для производств: бутылочнаго, листоваго, зеркальнаго, посуднаго и прочаго стекла, с приложением теоретических данных и заводской практики. Санкт-Петербург: К.Л. Риккер, 1898. С. 316.
- Лукич Г.Е. Конструирование художественных изделий из керамики. М.: Высшая школа, 1979. С. 184.

УДК 535.33/34:547.77

СПЕКТРОМЕТРИЯ ИОННОЙ ПОДВИЖНОСТИ ИМИДАЗОЛА И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ

© 2021 г. Д. А. Александрова^{*a*, *}, Т. Б. Меламед^{*a*}, Е. П. Баберкина^{*a*}, А. Е. Коваленко^{*a*}, Вл. Вит. Кузнецов ^{*a*}, Вит. Вл. Кузнецов^{*a*}, А. А. Фенин^{*a*}, Ю. Р. Шалтаева^{*b*}, В. В. Беляков^{*b*}

^а Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева Миусская пл., 9, Москва, 125047 Россия ^bНациональный исследовательский ядерный университет "МИФИ" Каширское шоссе, 31, Москва, 115230 Россия *e-mail: dasha-25.2012@yandex.ru Поступила в редакцию 01.04.2021 г. После доработки 06.05.2021 г. Принята к публикации 13.05.2021 г.

Определены значения времени дрейфа и ионной подвижности имидазола. Разработана методика математической обработки спектров. Изучены особенности изменения характера спектра ионной подвижности в процессе измерения в определенный момент времени. Предложено строение генерируемых ионов в соответствии с интерпретацией сигналов спектра. Оценены энтальпии образования генерируемых ионов. Выявлен характеристический сигнал иона имидазола, протонированного по атому азота пиридинового типа. Определен предел обнаружения имидазола при регистрации детектором "Кербер", составляющий 0.3 нг.

Ключевые слова: спектрометрия ионной подвижности (СИП), характеристический сигнал, протонирование, гетероциклические соединения азота, пиридин, имидазол. DOI: 10.31857/S0044450221110025

Современным экспресс-методом анализа химических соединений, в том числе в газовой фазе, является спектрометрия ионной подвижности [1, 2]. На предел обнаружения и разрешение метода влияют многие факторы. в том числе влажность и температура воздуха в процессе измерения. Их совместное воздействие пока недостаточно исследовано. Изменения характера сигнала во времени в процессе измерения практически не изучены, и возможные ион-молекулярные реакции, происходящие в дрейфовом пространстве, значительно усложняют достоверную интерпретацию спектров ионной подвижности. Однако быстродействие, высокая чувствительность, отсутствие необходимости применения вакуумных систем и радиоактивного источника ионизации, а также портативность прибора делают метод перспективным для решения широкого круга аналитических задач [3-6].

Современные спектрометры ионной подвижности настроены на обнаружение узкого круга соединений, чаще всего известных наркотических и взрывчатых веществ с хорошо изученным спектром ионной подвижности [3, 7]. В последнее время широкое распространение получили синтетические наркотики с видоизмененной хими-

ческой формулой, в структуре молекул которых присутствуют фрагменты азотсодержащих гетероциклов [7-10]. Данные соединения сложно идентифицировать из-за их постоянной модификации. Чтобы упростить процедуру выявления средств, которые обладают биологической активностью, но не внесены в "Перечень наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации", нами предложено применить ионно-дрейфовый детектор "Кербер", который уже используют в МВД, ФСБ и ФТС России. В качестве объекта исследования целесообразно выбрать термически устойчивый имидазол, информация о ионизации которого в дрейфовой камере спектрометра ионной подвижности в литературе практически не представлена [11-13]. Установление характеристического сигнала имидазола позволит отслеживать вещества, имеющие в своей структуре фрагмент имилазола.

Известно, что имидазол и его производные оказывают возбуждающее действие на центральную нервную систему, угнетают кортикальные нейроны, облегчают нервно-мышечную передачу (увеличивает вероятность освобождения вещества-медиатора), усиливают действие анальгети-

Характеристика	Значение для ИДД "Кербер"
Диапазон определяемых содержаний малолетучих органиче- ских веществ по 2,4,6-тринитротолуолу, г	От 1.0×10^{-11} до 2.0×10^{-7}
Предел обнаружения малолетучих органических веществ по 2,4,6-тринитротолуолу	
по твердым частицам, г	Не более 1.0 × 10 ⁻¹¹
по парам, г/см ³	Не более 1.0×10^{-14}
Способ ионизации	Импульсный коронный разряд
Температура дрейфовой трубки, °С	100
Время обнаружения и идентификации	Не более 5
для всех обнаруживаемых веществ, с	
Вероятность ложного срабатывания, %	Не более 1
Время очистки детектора при загрязнении целевыми	Не более 3
веществами в пределах диапазона детектирования, мин	

Таблина 1		Технические ха	пактепистики	и ионно-прейфового	летектора "Kenfen"
гаолица г	•	техни теские ла	partepherma	поппо дренфового	детектора кероер

ков и анестетиков, увеличивают силу сердечных сокращений и являются фрагментом синтетических каннабиноидов, например [1-(5-фторопентил)-1Н-бензимидазол-2-ил](нафтален-1-ил)метанона [13]. Исследование поведения имидазола и его производных в условиях спектрометрии ионной подвижности весьма актуально при разработке методик определения синтетических каннабиноидов, содержащих в своей структуре фрагменты азотсодержащих гетероциклов, в том числе имидазола. Расширение возможностей метода представляет большой теоретический и практический интерес.

Цель настоящей работы состояла в определении характерных сигналов имидазола в спектрах ионной подвижности, отнесении их к соответствующим структурам и в оценке возможности количественного определения имидазола.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оборудование и реактивы. Использовали ионно-дрейфовый детектор (ИДД) "Кербер" [14], работающий по методу спектрометрии ионной подвижности (Южполиметалл-Холдинг, Россия). Параметры, определяющие возможности метода, приведены в табл. 1.

Программное обеспечение ИДД "Кербер" позволяет сохранять результаты измерений (факты обнаружения целевых веществ) в двух форматах. "Спектр" – текстовый файл, содержащий данные о параметрах системы, информацию об обнаруженных целевых веществах и отсчеты ионограммы. "Фильм" – двоичный файл, содержащий параметры градуировки и динамику изменения ионограммы за 20 с работы детектора.

В данной работе приведены спектры ионной подвижности ИДД "Кербер" серий "Classic" и

"Next". Ионно-дрейфовый детектор "Кербер" серии "Classic" получил широкое распространение на мировом рынке технических средств безопасности, при этом прибор ИДД "Кербер" серии "Next" отличатся быстродействием и наличием двуполярного режима детектирования ионов, что позволяет определять соединения разных классов при различных типах ионизации одновременно [15]. Это полезно в анализе объектов, которые могут содержать наркотические и взрывчатые вещества, поэтому исследования проводили на двух сериях приборов.

Использовали препарат имидазола ООО "Кемикал Лайн" (Россия) чистотой 99%.

В работе применяли весы марки A&D GR-120 с дискретностью 0.0001 г.

Для определения предела чувствительности использовали дозатор марки Ленпипет Лайт 1–10 мкл.

Распределение электростатического потенциала иона рассчитывали в программе HyperChem 7 полуэмпирическим методом расчета PM3.

Специфика спектрометрии ионной подвижности. Метод спектрометрии ионной подвижности (СИП) основан на ионизации молекул исследуемого вещества при атмосферном давлении. Сначала в разрядной камере образуются реактант-ионы, концентрация которых существенно превышает концентрацию определяемых веществ. При попадании в прибор целевых веществ реактантионы передают молекулам заряд по механизму химической ионизации при атмосферном давлении.

Образование ионов в области положительной ионизации. Молекулы исследуемого вещества при столкновении с реактант-ионами образуют кластерные ионы, которые превращаются в более стабильные кластерные гидратированные ионы, отщепляя молекулы воды:

$$M^{+} + H^{+} (H_2O)_n \rightarrow MH^{+} (H_2O)_n \rightarrow$$
$$\rightarrow MH^{+} (H_2O)_{(n-x)} + xH_2O,$$

где М — молекула исследуемого соединения, $H^+(H_2O)_n$ — реактант-ион, $MH^+(H_2O)_n$ — кластерный ион, $MH^+(H_2O)_{n-x}$ — ион исследуемого соединения.

Образовавшийся в этом процессе продукт-ион называют "протонированным мономером". Возможно образование протонированного димера $MH^+(H_2O)_n$ и других молекулярных ионов. Количество молекул воды в кластере варьируется от 1 до 3 в зависимости от природы соединения [2].

Ионизированные молекулы различных веществ имеют разную скорость движения в дрейфовой камере в зависимости от их заряда, массы и эффективного сечения образовавшегося иона. Молекулярные ионы разных соединений отличаются временем прибытия τ_d к коллектору, что позволяет определить их природу.

Это время пропорционально длине дрейфовой камеры L (см) и обратно пропорционально градиенту электрического поля E:

$$\tau_{\rm d} = \frac{1}{KE},$$

где K – коэффициент подвижности, см²/(B c).

Ионная подвижность зависит от температуры и колебаний давления. Для сравнения значений ионной подвижности, полученные в разных условиях, величины *К* приводят к нормальным условиям:

$$K_0 = \frac{KP}{760} \frac{273}{T},$$

где T — температура (К) и P — давление (мм рт. ст.) в газовой атмосфере, в которой движутся ионы. K_0 называют приведенной подвижностью (или приведенным коэффициентом подвижности) [2]. В данной работе оперировали значениями приведенной ионной подвижности. Результаты могут быть представлены в виде "спектра" ионной подвижности (ионограммы).

Методика. Спектры ионной подвижности получали при атмосферном давлении, в качестве дрейфового газа использовали окружающий воздух.

Для выявления изменения характера спектра ионной подвижности его регистрировали каждую секунду после ввода пробы до исчезновения сигнала. Такой способ измерения позволяет увидеть, какой сигнал характеризует основной ион, количество возможных типов ионов, существует ли взаимопревращение ионов по мере прохождения дрейфовой камеры.

Отбор пробы проводили при комнатной температуре или при нагревании подложки до 80– 120°С в течение 5 с. Установлено, что время дрейфа для имидазола не зависит от температуры, при которой происходит забор образца. В дальнейшем отбор пробы проводили при нагревании с целью получения более интенсивного сигнала.

В зарегистрированных спектрах необходимо отделять сигналы фоновых соединений, присутствующих в воздухе, от сигналов ионов аналита, поскольку измерение на ионно-дрейфовом детекторе проводится при атмосферном давлении. Для этой цели в ходе эксперимента дополнительно разработали специальный способ математической обработки спектров, позволяющий точно и надежно выявлять сигналы аналитов и анализировать изменение интенсивности собственно характеристических сигналов в спектрах. Данный прием реализован в пакете Microsoft Office Excel. При вычитании фонового сигнала по формуле

=ЕСЛИ(((ЕСЛИ(V3<0;0;V3))-\$L3)<0;0;((ЕСЛИ(V3<0;0;V3))-\$L3))

получали достоверный сигнал исследуемого вещества. В ячейке L3 представлено обнуленное значение фона, т.е. все отрицательные значения амплитуды спектра сведены к нулю, в ячейке V3 представлено значение амплитуды сигнала аналита в спектре пробы. Все представленные ниже графические материалы обработаны этим способом. В процессе измерений и их математической обработки показано, что достоверной является выборка из 10 спектров с повторяющимися значениями ионной подвижности с погрешностью 0.7%, что соответствует удвоенному среднему квадратическому отклонению (СКО). Функцию, соответствующую полученному в результате измерений набору точек, определить с достаточной точностью не удалось. В связи с этим использовали метод средних прямоугольников. Возможность использования этого метода обусловлена тем, что он разработан для графического расчета площади криволинейных трапеций, которыми с точки зрения математического анализа являются все пики на ионограмме. В качестве ширины каждого прямоугольника выбирали разность значений между двумя соседними точками на оси ионной подвижности. За высоту прямоугольника принимали 1/2 суммы значений между соответствующими точками по оси ионно-

	Α	В	С	D
1	ионная полвижность	обработанные ланные	площадь прямоугольника. <i>S</i> :	площадь выбранного участка. <i>S</i>
	incidentiancene			<i>y</i> merina, 2
2	1.589055	25	0.05654	0.1225
3	1.587072	32	0.06530	
4	1.585093	34	0.05724	
5	1.583119	24		

Таблица 2. Расчет площадей пиков

*A–D – номера столбцов, *1–5* – номера строк в данной демонстрационной таблице, полученной в результате обработки данных в пакете Microsoft Office Excel.

го тока. Для расчета площади каждого прямоугольника *S*_i применили формулу вида (табл. 2):

$$S_1 = (A2 - A3)(B2 + B3)/2,$$

где (A2 – A3) – ширина, (B2 + B3)/2 – длина прямоугольника.

Площади прямоугольников рассчитывали для всего диапазона значений, исключая последнее. Далее по спектру определяли границы по оси абсцисс, в пределах которых был зарегистрирован пик. Площадь пика находили суммированием площадей прямоугольников по формуле вида (Excel): S = CYMM(C3:C4). Таким образом определяли площади всех полученных сигналов, а по зависимости площади пика от времени оценивали изменение площадей пиков во времени. Количество значащих цифр при выполнении расчетов устанавливали, исходя из возможностей пакета Microsoft Office Excel.

В данной работе реализовали метод определения предела обнаружения с использованием минимального количества образца для получения сигнала амплитудой 20 ЕМЗР. При детектировании некоторых веществ спектрометром ионной



Рис. 1. Сравнительные ионограммы имидазола (*1*) и пиридина (*2*).

подвижности массой порядка 1 мкг может наблюдаться перегрузка прибора. В связи с этим сначала приготовили раствор имидазола в диэтиловом эфире с концентрацией 0.3 г/л. Один микролитр раствора наносили дозатором на алюминиевую фольгу. После испарения растворителя на фольге оставалось 3×10^{-7} г остатка. Пробу отбирали при нагревании в течение 5 с. Получили спектр амплитудой 4000 EM3P. Затем методом разбавления раствора понижали концентрацию раствора на один порядок, пока не получили сигнал 20 EMP3 для 0.3 нг.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Была получена серия спектров образцов имидазола при различных концентрациях и проведена их математическая обработка с целью приблизительной оценки относительных количеств ионов.

На рис. 1 приведены ионограммы имидазола и пиридина. Как видно, в обоих спектрах ионной подвижности имеется сигнал в области 2.1 см²/(В с), отнесенный к протонированной форме мономера по пиридиновому атому азота, что согласуется с предварительными исследованиями других гетероциклических соединений [16–18]. В спектре имидазола (рис. 1) также регистрируется второй сигнал 1.7 см²/(В с), отнесенный к протонированной форме его димера.

Спектры ионной подвижности имидазола исследовали при различных концентрациях для установления иона, соответствующего второму регистрируемому пику (ионограммы приведены на рис. 2–5). Сначала выполняли измерения для проб имидазола массой 100 мг и 100 мкг на ионнодрейфовом детекторе "Кербер" серии "Classic". Как видно из рис. 2, происходит одновременный рост, а затем уменьшение интенсивности сигналов обоих пиков, причем пику с большей ионной подвижностью отвечает большее значение ионного тока. Изменение площадей пиков полностью коррелирует с интенсивностью сигналов, что свидетельствует об одновременном присут-



Рис. 2. (а) Зависимость площадей пиков от времени регистрации спектра имидазола массой 100 мкг (*1* – мономер, *2* – димер). (б) Изменение во времени спектра имидазола массой 100 мкг; спектры ионной подвижности регистрировали через 1 (*1*), 2 (*2*), 3 (*3*), 4 (*4*) 5 (*5*) секунд после начала измерения на ионно-дрейфовом детекторе "Кербер" серии "Classic".



Рис. 3. (а) Зависимость площадей пиков от времени регистрации спектра имидазола массой 100 мг (1 – мономер, 2 – димер). (б) Изменение во времени спектра имидазола массой 100 мг; спектры ионной подвижности регистрировали через 1 (1), 2 (2), 3 (3), 4 (4) 5 (5) секунд после начала измерения на ионно-дрейфовом детекторе "Кербер" серии "Classic".

ствии двух ионов. Один из них с меньшей ионной подвижностью соответствует иону димера имидазола.

При увеличении массы пробы в спектре происходят следующие изменения (рис. 3). Значения ионной подвижности для обоих сигналов остаются постоянными и соответствуют ионной подвижности образца имидазола массой 100 мкг (рис. 2). Однако интенсивности сигналов перераспределяются. Сигналы ионов димера и моно-



Рис. 4. (а) Зависимость площадей пиков от времени регистрации спектра имидазоламассой 100 мкг (1 – мономер, 2 – димер). (б) Изменение во времени спектра имидазола массой 100 мкг; спектры ионной подвижности регистрировали через 1 (1), 2 (2), 3 (3), 4 (4) 5 (5) с после начала измерения на ионно-дрейфовом детекторе "Кербер" серии "Next".



Рис. 5. (а) Зависимость площадей пиков от времени регистрации спектра имидазола массой 100 мг (1 – мономер, 2 – димер). (б) Изменение во времени спектра имидазола массой 100 мг; спектры ионной подвижности регистрировали через 1 (1), 2 (2), 3 (3), 4 (4) 5 (5) с после начала измерения на ионно-дрейфовом детекторе "Кербер" серии "Next".

мера имидазола появляются одновременно. Далее амплитуда сигнала иона димера увеличивается и достигает максимального значения на пятой секунде (ионограмма 3 рис. 3), что подтверждает анализ площадей пиков имидазола в высокой концентрации. При понижении концентрации имидазола в пробе в спектрометре ионной подвижности начинается разрушение димера за счет столкновения с молекулами окружающего газа. Как следствие, происходит увеличение количества мономера, что также отражается в спектре ионной подвижности.

Аналогичные исследования провели с использованием ионно-дрейфового детектора "Кербер"



Рис. 6. Распределение электростатического потенциала мономерной и димерной форм имидазола.

серии "Next" (рис. 4, 5). Установили, что сначала спектрометр регистрирует димерную форму имидазола с подвижностью 1.7 см²/(В с) (рис. 4). Далее при уменьшении количества имидазола наблюдается уменьшение площади пика димерной формы. Соответственно площадь пика мономера постепенно возрастает и становится основной в процессе измерения. Соотношение площадей пиков мономерной и димерной форм соответствует предыдущей серии исследований.

Отметим, что в начале измерений пробы имидазола массой 100 мг в момент предполагаемой максимальной концентрации введенной пробы в спектрометре регистрируется в основном сигнал димерной формы, сигнал мономера практически отсутствует, что иллюстрирует рис. 5. В дальнейшем сигнал мономера возрастает, а сигнал димера уменьшается, и соотношение площадей пиков димерной и мономерной форм остается постоянным до конца измерения.

В ходе исследования спектров ионной подвижности незамещенного имидазола установлено, что при регистрации необходимо учитывать наличие сигналов двух форм. Точно установлено, что сигнал 2.1 см²/(В с) соответствует мономерной форме, а сигнал 1.7 см²/(В с) — димерной форме. С помощью программы Hypercube Hyper-Chem 8.0 полуэмпирическим методом PM3 определили распределения электростатического потенциала, оценили энтальпии образования ионов мономера и димера имидазола (рис. 6, табл. 3) [19]. Имидазол можно регистрировать по двум

Название иона	Молярная масса, г/моль	Ион	Энтальпия образования, кДж/моль	Значение ионной подвижности ± ± 2CKO, см ² /(В с)
Имидазол	68	H N. () () H	71900	2.1
Димер имидазола	136		-142243	1.70

Таблица 3. Расчетные и экспериментальные значения для имидазола

пикам одновременно или по каждому сигналу индивидуально.

* * *

На примере имидазола установлено, что два сигнала в спектрах ионной подвижности соответствуют мономерной и димерной формам ионов имидазола. Выявлено, что по мере прохождения ионами аналита дрейфовой камеры происходит перераспределение интенсивностей пиков. Димерная форма имидазола в начале измерения переходит в мономерную форму. Сигнал иона, протонированного по пиридиновому атому азота, возникает в достаточно узком интервале ионной подвижности $2.1 \text{ см}^2/(\text{В с})$ (относительная погрешность 0.7%) и может служить характерным сигналом для идентификации пиридинового атома азота в молекуле. Определен предел обнаружения имидазола, равный 0.3 нг.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Буряков И.А. Российские публикации 1991– 2010 годов, посвященные методу спектрометрии ионной подвижности // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66. № 11. С. 1210.
- 2. *Eiceman G.A., Kapras Z., Hill H.H., Jr.* Ion Mobility Spectrometry. 3rd Ed. Boca Raton, USA, FL: Taylor&Francis, CRC Press, 2014. 444 p.
- Буряков И.А., Коломиец Ю.Н., Луппу В.Б. Обнаружение паров взрывчатых веществ в воздухе с помощью спектрометра нелинейности дрейфа ионов. // Журн. аналит. химии. 2001. Т. 56. С. 381.
- Крисилова Е.В., Левина А.М., Макаренко В.А. Определение летучих компонентов растительных масел с помощью спектрометра ионной подвижности // Журн. аналит. химии. 2014. Т. 69. № 4. С. 414.
- Hana Hai-yan, Wanga Hong-mei, Jiang Hai-he, Stanob Michal, Sabob Martin, Matejcikb Stefan, Chu Yan-nan. Corona discharge ion mobility spectrometry of ten alcohols // Chin. J. Chem. Phys. 2009. V. 22. № 6. P. 604.
- Yang Liu Sihou, Huihui, Huang Xi, Zhan Lingpeng, Luo Peiqi, Xue Jinjuan, Chen Rui, Nie Zongxiu. The metabolism and distribution of imidazole alkaloids from Lepidium meyenii (Maca) in mouse by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging // Int. J. Mass spectrom. 2018. V. 434. P. 93.
- Byungsuk Cho, Han Soo Cho, Junghyun Kim, Juhyun Sim, Ilung Seol, Seung Kyung Baeck, Sangwhan In, Dae Hwan Shin, Eunmi Kim. Simultaneous determination of synthetic cannabinoids and their metabolites in human hair using LC-MS/MS and application to human hair // Forensic Sci. Int. 2020. V. 306. Article 110058.
- Liao S., Liang X. Rapid measurement of phthalic acid ester environmental hormones using ion mobility spectrometry // Int. J. Ion Mobil. Spectrom. 2020. V 23. P. 97.

- Tose Lilian V., Santos Nayara A., Rodrigues Rayza R.T., Murgu Michael, Santos Alexandre F., Vasconcelos Gessica A., Souza Paulo T.C., Vaz Boniek G., Romao Wanderson. Isomeric separation of cannabinoids by UPLC combined with ionic mobility mass spectrometry (TWIM-MS) – Part I // Int. J. Mass Spectrom. 2016. V. 418. P. 112.
- Zhou Z.G., Yang B.F., Wu G., Zhou X.J. Review of modern analytical techniques for determination and identification of synthetic cannabinoids // Chin. J. Forensic Med. 2015. V. 30. P. 594.
- 11. Charlton Andrew J.A., Jones Ainsley. Determination of imidazole and triazole fungicide residues in honeybees using gas chromatography–mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2007. V. 1141. № 1. P. 117.
- Marques Lino, Anibal T. de Almeida. Application of Odor Sensors in Mobile Robotics. Autonomous Robotic Systems, London: Springer, 1998. P. 82.
- 13. Schofield K., Grim-mett M.R., Keene B.R.T. Heteroaromatic Nitrogen Compounds: The Azoles. Cambridge: Cambridge University Press, 1976. 437 p.
- Южполиметалл-холдинг. Портативный ионнодрейфовый детектор "Кербер-T" URL: http://www.analizator.ru/production/ims/kerber-t/ (12.04.2021).
- 15. Громов Е.А. Система регистрации и управления спектрометрическим каналом двухполярного спектрометра ионной подвижности. Дис. ... канд. техн. наук. Москва: Институт нанотехнологий в электронике, спинтронике и фотонике национального исследовательского ядерного университета "МИФИ", 2018. 160 с.
- 16. Александрова Д.А., Бабёркина Е.П., Гришин С.С., Гущина А.А., Курбанова Д.М., Трефилова В.В., Коваленко А.Е., Шалтаева Ю.Р., Беляков В.В. Исследование спектров ионной подвижности азотсодержащих гетероциклов на ионно-дрейфовом детекторе "Кербер" / Тез. докл. XXII Всероссийской конференции молодых ученых-химиков (с международным участием). Нижний Новгород, 2019. С. 277.
- 17. Александрова Д.А., Бабёркина, Е.П., Дубкина Е.А., Коваленко А.Е., Шалтаева Ю.Р., Беляков В.В. Исследование спектров ионной подвижности ароматических азотсодержащих гетероциклических соединений на ионно-дрейфовом детекторе "Кербер" / Тез. докл. Актуальных аспектов химической технологии биологически-активных веществ: сб. научных трудов. Москва, 2020. С. 34.
- 18. Grishin S.S., Negru K.I., Baberkina E.P., Kovalenko A.E., Gushchina A.A., Aleksandrova D.A., Shutova Y.E., Zharikov A.P., Dorskaya E.V., Shaltaeva Y.R., Belyakov V.V., Golovin A.V., Gromov E.A., Matusko M.A., Khamraev V.F. The influence of chemical structure of nitrogen-containing heterocyclic compounds on the character of ion mobility spectra // J. Phys.: Conf. Ser. 2019. V. 498. N
 [©] 1. P. 1.
- Gabelica Valérie, Marklund Erik. Fundamentals of ion mobility spectrometry. // Curr. Opin. Chem. Biol. 2018. V. 42. P. 51.
УДК 543.33:544.169

ИССЛЕДОВАНИЕ СОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ ПОЛИМЕРНЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ АКРИЛАМИДА СПЕКТРАЛЬНЫМИ МЕТОДАМИ АНАЛИЗА

© 2021 г. Я. И. Симакина^{*a*, *}, Т. Г. Кузьмина^{*a*}, В. Г. Сенин^{*a*}

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

*e-mail: yana.igorevna@list.ru Поступила в редакцию 21.04.2021 г. После доработки 18.05.2021 г. Принята к публикации 24.05.2021 г.

Методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой показано, что элементы (Fe, Mn, Cu, Cr, Co, Ni) прочно удерживаются в фазе гидрогеля (ГГ) и практически не десорбируются. Разработан способ определения ионов металлов, основанный на сорбционном концентрировании элементов полимерными гидрогелями и последующем прямом анализе сорбента методом рентгенофлуоресцентного анализа (РФА). Показано, что для определения содержания элементов в ГГ после сорбции можно применять метод РФА непосредственно на твердой фазе, исключая стадию десорбции и дополнительной пробоподготовки. Градуировочные зависимости линейны в диапазоне.0.05–1.3 мкг/мл. Пределы обнаружения металлов в твердой фазе составляют 0.0002, 0.0003, 0.0002 и 0.0005 мас. % для ионов Fe(III), Cr(VI), Cu(II) и Mn(II), что соответствует концентрации этих элементов в исходном растворе 0.007, 0.017, 0.007 и 0.010 мкг/мл. Относительные стандартные отклонения составляют 4.1, 3.2, 4.1 и 5.2% соответственно. Способ апробирован при определении Cr(VI), Mn(II) и Cu(II) в водопроводной воде.

Ключевые слова: сорбция элементов, сорбционное концентрирование, полимерные гидрогели, определение веществ на твердой фазе, анализ жидкостей, РФА.

DOI: 10.31857/S0044450221110141

Большое количество комбинированных методов анализа объектов окружающей среды, промышленных, геологических и биологических объектов включает сорбционное концентрирование следовых количеств элементов. К концентрированию компонентов прибегают, прежде всего, в случаях, когда чувствительность методов прямого определения компонентов недостаточна. Концентрирование также необходимо, если компонент распределен в анализируемом образце негомогенно. Кроме того, при использовании физических методов анализа концентрирование дает возможность обойтись без большого числа образцов сравнения и стандартных образцов, так как можно получить концентраты на единой основе [1].

Существует два основных подхода к определению соединений после их сорбционного выделения: во-первых, проведение десорбции и анализ элюата, а во-вторых, регистрация аналитического сигнала напрямую с твердой фазы. Второй подход позволяет сократить продолжительность анализа и снизить возможные потери в процессе пробоподготовки. Для реализации второго подхода могут быть использованы нейтронно-активационный анализ (НАА) [2–4], рентгенофлуоресцентный анализ (РФА) [5–8], спектрофотометрический, цветометрический, люминесцентный анализ [9–12], спектроскопия диффузного отражения (СДО) [13], ИК-спектроскопия [14], атомноабсорбционная спектрометрия с электротермической атомизацией (ЭТААС) [15, 16].

В качестве сорбентов применяют различные типы материалов, например гидрофобизированные кремнеземы, ксерогели кремниевой кислоты, пенополиуретаны, ионообменные смолы, сорбенты на основе полистирола, поливинилхлорида. Активно разрабатываются и внедряются сорбенты, поверхность которых модифицирована различными функциональными группами [17]. Перспективными сорбентами являются полимерные гидрогели (ГГ) на основе гидрофильных полимеров как синтетического, так и природного происхождения [18, 19]. К ним следует, в первую очередь, отнести полимеры белкового характера (желатин) и полисахариды (целлюлоза, декстран, их карбокси- и гидроксипроизводные, каррагинан, хитозан). Гидрогели находят применение в сельском хозяйстве, биотехнологиях, химической промышленности, медицине. Физико-механические свойства различных гидрогелей достаточно хорошо изучены, чего нельзя сказать об их сорбционных свойствах. По этой причине, а также из-за отсутствия соответствующих методических решений, ГГ в настоящее время редко применяются в качестве сорбентов для концентрирования элементов в аналитической практике.

В настоящей работе методами атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП), РФА, рентгеноспектрального микроанализа (РСМА) и растровой электронной микроскопии (РЭМ) исследованы полимерные высокомолекулярные гидрогели на основе акриламида (ПАА) в качестве сорбентов для определения Fe(III), Cr(VI), Mn(II) и Cu(II). Taкие характеристики ГГ на основе ПАА, как исключительно высокая сорбционная емкость, магнитная и химическая инертность, доступность, удобство работы с материалом, механическая устойчивость, возможность использования в широком диапазоне температур и давлений, отражают их преимущества по сравнению с известными ранее полимерными материалами. В этой связи представляются целесообразными разработка и исследование аналитических систем на основе ПАА для анализа водных объектов спектроскопическими методами.

Для определения элементов в твердой фазе ГГ выбрали широко используемый в аналитической практике метод РФА в связи с простотой пробополготовки, возможностью многоэлементного анализа, экспрессностью, достаточно высокой воспроизводимостью и относительно низкой стоимостью анализа [1, 5]. При РФА жидкостей в традиционном исполнении в виде "толстых" излучателей пределы обнаружения большинства элементов в водных растворах составляют не ниже десятков мг/л. Применение РФА без предварительной пробоподготовки возможно, например, в случае высокоминерализованных пластовых вод, сточных вод металлургических предприятий, рудничных вод, при определении макроэлементов в морской воде [5]. Но и в этих случаях не исключаются общие проблемы, возникающие при РФА жидких проб, помещенных в специальные кюветы: появление пузырьков газа, образование выпуклой пленки на дне кюветы, высокая интенсивность рассеянного излучения, осаждение элементов из анализируемых растворов на пленке и др. Для определения малых содержаний элементов в водах широкое распространение получило сочетание РФА и предварительного концентрирования, которое позволяет получить твердый гомогенный концентрат в форме, пригодной для анализа. В частности, для РФА водных растворов описаны способы приготовления квазитвердых излучателей на основе гелеобразующих агентов (желатина или агар-агара), полимерных стекол на основе сахарозы [5].

Цель работы — изучение сорбционных свойств гидрогелей с применением спектральных методов анализа и разработка способа определения ионов металлов, основанного на сорбционном концентрировании элементов полимерными гидрогелями с последующим прямым анализом сорбента методом РФА.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы. Использовали азотную и соляную кислоты ос. ч. (Сигма Тек, Россия), одноэлементные градуировочные стандарты (ЭАА "Экоаналитика", Москва, Россия). Градуировочные растворы готовили разбавлением соответствующих стандартов ультрачистой деионизованной водой (15–18 МОм см, система очистки "Simplisity Millipore", Франция). В качестве объектов сорбции использовали модельные растворы солей металлов (CuSO₄·5H₂O, FeCl₃·6H₂O, MnSO₄·5H₂O, K₂Cr₂O₇ и др.) квалификации ч. д. а., а также градуировочные стандарты (растворы).

Использовали неионный полиэлектролит ПАА, гранулированный ГГ (Аттлайн, Россия) с размером гранул от 2 до 1 мм. Формула звена ГГ приведена ниже:

$$\begin{bmatrix} CH_2 - HC \\ C = O \\ NH_2 \\ n \end{bmatrix}_n$$

Известно, что ГГ содержат большое количество ионов калия, соли которого вводят в качестве инициатора полимеризации. Элементный состав ГГ был определен ранее методом высокотемпературной пиролизной хроматографии и составил, %: углерод 37.3 ± 0.3 , азот 10.0 ± 0.2 , водород 5.91 ± 0.10 .

Атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой. Полноту сорбции контролировали анализом жидкой фазы до и после сорбции методом АЭС-ИСП. Измерения проводили на оптико-эмиссионном спектрометре с индуктивно-связанной плазмой "Varian 720-ES" (Agilent Technologies, Inc., США) с радиальным наблюдением плазмы. Полученные данные обрабатывали с помощью программы "ICP Expert II". Параметры работы прибора: ВЧ-мощность – 1000 Вт, плазмообразующий поток – 15 л/мин, расход образца – 1.5 л/мин, скорость потока насоса – 1.5 мл/мин. Спектроскопическое определение элементов проводили при длинах волн по ГОСТ [20].

Рентгеноспектральный микроанализ и растровую электронную микроскопию использовали для

Элемент	Линия	Кристалл- анализатор	Коллиматор, мкм	Детектор	Режим работы, кВ/мА	Положение пика линии (20, град)	Фон (2θ, град)
Fe	Κα	LiF 200	150	пп*	50/60	57.5720	+0.6218
Mn	Κα	LiF 200	150	пп*	50/60	63.0430	+0.5926
Cr	Κα	LiF 200	150	пп*	50/60	69.4282	+0.7692
Cu	Κα	LiF 200	150	пп*	50/60	45.0374	-1.3054

Таблица 1. Условия проведения рентгенофлуоресцентного анализа на спектрометре "AXIOS Advanced"

* Проточно-пропорциональный.

изучения морфологии ГГ, установления транспортных характеристик, влияющих на аналитические параметры сорбции. Исследования проводили на микроанализаторе "SX 100" (САМЕСА, Франция) с четырьмя кристаллдифракционными спектрометрами и электронном микроскопе TESCAN Mira3 с энергодисперсионым рентгеновским спектрометром. Образцы заливали в эпоксидную смолу, шлифовали и полировали. Затем на их поверхность в вакууме наносили электропроводящую углеродную пленку. Морфологию частиц гидрогелей исследовали в режиме обратно рассеянных электронов (BSE).

Гидрогели неустойчивы под зондом и поэтому являются сложными объектами для РСМА. Похожую задачу пришлось решать при исследовании фотоэмульсионных слоев авторадиограмм [21]. Использовали режим с низкой энергетической нагрузкой: ускоряющее напряжение электронов – 20 кВ, ток зонда – 10 нА.

Рентгенофлуоресцентный анализ. Для элементного анализа гранул ГГ использовали спектрометр "AXIOS Advanced" (PANalytical B.V., Нидерланды). Прибор оснащен рентгеновской трубкой с Rh-анодом мощностью 4 кВт, сканирующим каналом по Соллеру с кристаллами-анализаторами (PE-002-C, PX-1, GeIII-C, LIF-200, LIF-220) и детектирующим устройством, состоящим из проточного и запаянного пропорциональных счетчиков и сцинтилляционного детектора [8].

Сухой ГГ помещали в объем модельного раствора или природной воды. После полного набухания полимера гель высушивали. Сухой концентрат ГГ россыпью помещали в кювету для анализа. Измерения проводили несколько раз. Условия проведения анализа на данном спектрометре представлены в табл. 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сорбционное концентрирование элементов полимерными гидрогелями. Для выбора оптимальных условий анализа водных растворов с использованием ГГ исследовали степень набухания полимера, степень концентрирования определяемых элементов, а также возможность избирательной сорбции гидрогелем ионов из раствора. В ходе исследований навеску ГГ помещали в фиксированный объем раствора с определяемыми элементами (элементом), перемешивали, выдерживали заданное в эксперименте время, затем отделяли раствор от набухших гранул, определяли его объем и остаточное содержание в нем элементов методом АЭС-ИСП.

Найдено, что в кислой среде (до pH 2–3) гранулы ГГ набухают незначительно, а сорбция элементов происходит в режиме ионного обмена на поверхности, как для ионообменных смол. Это иллюстрирует рис. 1, на котором представлены изменения содержаний ионов меди и калия в растворе во времени в присутствии ГГ. Видно, что при увеличении времени нахождения ГГ в растворе рост концентрации ионов калия коррелирует с уменьшением концентрации ионов меди. В аналогичных условиях изучена сорбция ионов Fe, Mn, Cu, Cr, Co и Ni с суммарной концентрацией в водном растворе 11.5 мкг/мл. Сорбция неизбирательна, степень сорбции составляет 13.5% (0.5 г ГГ), 16% (1 г ГГ) и 27% (2 г ГГ).

В нейтральной среде наблюдается набухание ГГ, в результате которого он равномерно заполняет весь объем раствора, образуя желеобразную массу (гель), процесс занимает до 10 мин. Максимальное набухание рассчитывали по формуле: $(m - m_0)/m_0 \cdot 100\%$, где m_0 – начальная масса ГГ, *т* – масса ГГ после набухания в воде. Максимальная степень набухания, которой соответствует максимальная степень концентрирования, составляет 3.4 × 10⁴%. Набухший ГГ, в котором заключен весь объем исследуемого раствора (0.34 л на 1 г полимера), высушивали на воздухе при комнатной температуре или в сушильном шкафу при 60°С. Продолжительность высушивания в наших экспериментах составляла 1-2 ч, однако это время можно значительно сократить, используя, например, вакуумную сушку. Сухие гранулы ГГ вынимали из реакционного стаканчика и исследовали методом РФА, стаканчик обмывали небольшим количеством воды или разбавленной азотной кислоты (2%) и жидкую фазу анализиро-



Рис. 1. Изменение содержания ионов меди и калия в растворе во времени в присутствии гидрогеля: *I* – Cu, *2* – К. Исходная концентрация Cu(II) 127 мг/л, масса гидрогеля 0.1 г, объем раствора 50 мл.

вали методом АЭС-ИСП. Результаты экспериментов показали, что степень сорбции ионов металлов (Fe, Mn, Cu, Cr, Co и Ni) в нейтральной среде составляет 97–99%.

Для исследования десорбции элементов гранулы ГГ подвергали элюированию кислотами (смесь 5%-ной HCl и 3%-ной HNO₃) в течение 30 мин при перемешивании, после чего элюат анализировали методом АЭС-ИСП. Установлено, что сорбированные ионы прочно удерживаются в фазе полимера, неорганическими кислотами элюируется не более 3% от массы сорбированных металлов. Этот факт соответствует выводам, сделанным в работе [22], о том, что ионы металла прочно связываются с гидрогелем, при этом сорбент выступает в качестве лиганда, гетероатомы которого частично или целиком заполняют координационную сферу металла.

Изучение гидрогелей с помощью рентгеноспектрального микроанализатора и растрового электронного микроскопа. Морфологию твердой фазы исследовали на рентгеноспектральном микроанализаторе, используя режим сканирующего электронного микроскопа (рис. 2). По микрофотографии ГГ видно, что частицы полимера состоят из мелких агломератов неправильной формы. На СЭМ-изображении также видно, что микрогранулы ГГ имеют невыраженную пористость, поэтому набухание гидрогелей в основном происходит за счет диффузии воды в свободный объем.

Методом РЭМ исследовали распределение ионов марганца внутри гранулы ГГ. Установили,



Рис. 2. Микрофотография фрагмента геля в обратно рассеянных электронах (BSE).

что ионы распределяются практически равномерно по объему (рис. 3).

Апробация метода рентгенофлуоресцентного анализа определения металлов, сорбированных на гидрогеле. Метод АЭС-ИСП широко применяют для определения металлов в различных объектах. Нами исследована возможность применения АЭС-ИСП для анализа ГГ после сорбции. Для этого проводили высокотемпературное озоление гранул в муфельной печи при 550°С с последующим растворением сухого остатка в смеси кислот



Рис. 3. Распределение марганца по срезу гранулы гидрогеля.

Таблица 2. Значения коэффициентов вариации, характеризующих случайные погрешности анализа для Fe(III), Cr(VI), Cu(II) и Mn(II)

Элемент	$V_{_{\rm H3M}},$ %	<i>V</i> _{проба,} %	V _{общ} , %
Fe	3.3	2.4	4.1
Mn	3.8	3.8	5.4
Cr	2.3	2.2	3.2
Cu	3.4	2.3	4.1

и анализом раствора методом АЭС-ИСП. Такой подход не дал удовлетворительных результатов, так как из-за особенностей ГГ сопряжен с существенными потерями сорбированных элементов (до 30%), а также является трудозатратным.

Для определения элементов в твердой фазе ГГ выбрали метод РФА. В практике анализа твердых веществ этим методом обычно используют два способа пробоподготовки: растирание пробы до мелкодисперсного порошка и прессование его в таблетку или сплавление пробы с флюсом для получения стеклянных дисков. В данной работе пробы ГГ не подвергали предварительной обработке. Высушенные гранулы помещали в пластиковую кювету диаметром 38 мм с дном из майларовой пленки (облучение пробы происходит снизу, т.е. через майларовую пленку).

Предварительно установлено, что оптимальное количество гидрогеля, которое обеспечивает "насыщенный" слой для определяемых элементов и позволяет равномерно распределить пробу в кювете, составляет 5 г.

Для оценки погрешности, связанной с однородностью анализируемого материала и случайным расположением гранул гидрогеля в кювете, а также ошибки измерения интенсивности аналитического сигнала суммарную случайную погрешность (коэффициент вариации) разлагали по схеме однофакторного дисперсионного анализа:

$$(V_{\text{общ}})^2 = (V_{\text{изм}})^2 + (V_{\text{проба}})^2,$$

где $V_{\mu_{3M}}$ – коэффициент вариации, характеризующий воспроизводимость измерений аналитического сигнала, который зависит от стабильности работы аппаратуры, V_{проба} – коэффициент вариации, характеризующий однородность анализируемого материала и стабильность загрузки пробы в кювету. Для этого навеску гидрогеля засыпали в кювету, выравнивали толщину слоя и трижды измеряли интенсивности аналитических линий: FeK α , MnK α , CrK α , CuK α . После этого пробу дважды извлекали из кюветы, засыпали в нее вновь и повторяли измерения. В табл. 2 приведены полученные результаты. Как видно, коэффициенты вариации $V_{\rm изм}$ и $V_{\rm проба}$ для всех элементов имеют примерно равные значения, т.е. погрешность V_{проба} не превосходит погрешности измерений, что свидетельствует об однородности анализируемого материала.

Для построения градуировочных графиков использовали пробы ГГ, содержащие ионы Fe(III), Cr(VI), Cu(II) и Mn(II). Для этого ГГ помещали в модельный раствор объемом 1.5 л, содержащий определяемые элементы. Перемешивали, после набухания ГГ и полного поглощения раствора влажный сорбент переносили в чашку Петри и высущивали на возлухе или в сущильном шкафу при 60°С. Исходные содержания ионов в модельных водных растворах и соответствующие расчетные содержания этих элементов в твердой фазе представлены в табл. 3. Коэффициенты концентрирования в экспериментах составляли примерно 300. Градуировочные графики представляют собой линейные зависимости скорости счета (тыс. имп/с) от концентраций элементов (мас. %) (рис. 4). Одно из важных достоинств ГГ как сорбентов – возможность длительного хранения проб. Как показали эксперименты с этими же пробами, проведенные через несколько месяцев, градуировочные графики не изменяются.

В табл. 4 приведены диапазоны определяемых содержаний элементов, стандартные отклонения, характеризующие погрешность градуировочных функций (RMS, мас. %), и пределы обнаружения, рассчитанные по 3-о критерию.

Таблица 3. Содержания элементов в исходном растворе до концентрирования (мкг/мл) и в высушенном гидрогеле после сорбции (мас. %)

Номер	Fe(III)		Cr(VI)		Mn(II)		Cu(II)	
образца	мкг/мл	мас. %	мкг/мл	мас. %	мкг/мл	мас. %	мкг/мл	мас. %
1	0.05	0.0016	0.06	0.0018	0.03	0.0010	0.08	0.0025
2	0.14	0.0041	0.15	0.0045	0.16	0.0048	0.21	0.0063
3	0.31	0.0092	0.45	0.0134	0.32	0.0095	0.63	0.0189
4	0.92	0.0276	0.89	0.0267	0.95	0.0285	1.29	0.0378



Рис. 4. Градуировочные графики для определения Си (1), Mn (2), Cr (3), Fe (4). Условия см. в тексте.

Разработанный способ применили для анализа проб чистой водопроводной воды и воды с добавками Cr(VI), Cu(II) и Mn(II). Эти же образцы анализировали стандартным методом АЭС-ИСП. Из данных табл. 5 следует, что результаты, полученные разработанным способом и методом АЭС-ИСП, удовлетворительно совпадают.

Таким образом, полимерные ГГ на основе акриламида являются эффективными сорбентами для концентрирования металлов из водных растворов. Показано, что набухание максимально в нейтральных средах и составляет 3.3×10^4 %. Сорбированные ионы прочно удерживаются в фазе ГГ и практически не элюируются неорганическими кислотами. Концентраты в фазе ГГ устойчивы длительное время. Для определения сорбированных элементов непосредственно в фазе ГГ впервые применен метод РФА. Градуировочные зависимости линейны в диапазоне.0.03-1.3 мкг/мл. Показано, что пределы обнаружения составляют 0.007, 0.017, 0.007 и 0.01 мкг/мл, относительные стандартные отклонения составляют 4.1, 3.2, 4.1 и 5.2% для ионов Fe(III), Cr(VI), Cu(II) и Mn(II) соответственно. Предложенный способ анализа апробирован на водопроводной воде. В настоящее время имеется большой выбор недорогих портативных рентгеноспектральных приборов, пригодных для использования в полевых условиях. Наличие таких приборов в сочетании с простотой пробоподготовки, стабильностью получаемых градуировочных зависимостей и анализируемых проб обусловливает перспективность применения предложенного способа, например, во внелабораторных экологических исследованиях.

твердой фазе гидрогеля, диапазоны определяемых содержаний и расчетные пределы обнаружения элементов в исходных растворах и в гидрогеле						
Элемент	Диапазон содержания в ГГ,	Диапазон содержания в	RMS, мас. %	Пределы обнаружения в	Пределы обнаружения	

Таблица 4. Метрологические характеристики рентгенофлуоресцентного анализа при определении металлов в

Элемент	Диапазон содержания в ГГ, мас. %	Диапазон содержания в растворе, мкг/мл	RMS, мас. %	Пределы обнаружения в ГГ, мас. %	Пределы обнаружения в растворе, мкг/мл
Fe	0.0016-0.027	0.05-0.92	0.00029	0.0002	0.007
Mn	0.0010-0.029	0.03-0.95	0.00022	0.0003	0.010
Cr	0.0018 - 0.027	0.06-0.89	0.00046	0.0005	0.017
Cu	0.0025-0.038	0.08-1.29	0.00048	0.0002	0.006

Таблица 5. Результаты (мкг/мл) анализа водопроводной воды методами рентгенофлуоресцентного анализа и атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой

Элемент	Чиста	я вода	Вода с добавками		
Shemenn	РФА	АЭС-ИСП	РФА	АЭС-ИСП	
Mn	0.044 ± 0.007	0.034 ± 0.006	1.00 ± 0.156	0.98 ± 0.15	
Cr	н/о*	н/о*	1.28 ± 0.115	1.3 ± 0.19	
Cu	0.42 ± 0.052	0.35 ± 0.051	2.25 ± 0.15	2.06 ± 0.22	
Fe	0.049 ± 0.005	0.057 ± 0.004	0.55 ± 0.06	0.51 ± 0.04	

* Не обнаружено.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Золотов Ю.А., Цизин Г.И., Моросанова Е.И., Дмитриенко С.Г. Сорбционное концентрирование микрокомпонентов для целей химического анализа // Успехи химии. 2005. Т. 74. № 1. С. 41.
- 2. Колесов Г.М., Ермолаева В.Н., Михайлова А.В., Коеарко Л.Н. Гидрогели как новые концентраторы редкоземельных и радиоактивных металлов в процессах их выщелачивания из пород Ловозерского массива // Геохимия. 2012. № 3. С. 333.
- 3. Колесов Г.М., Саввин С.Б., Михайлова А.В. Водные системы: концентрирование и определение металлов с использованием полимерных гидрогелей и нейтронно-активационного анализа // Вода: химия и экология. 2009. № 9. С. 37.
- 4. Колесов Г.М., Михайлова А.В., Ермолаева В.Н., Саввин С.Б., Когарко Л.Н. Особенности нейтронно-активационного анализа геологических образцов в исходной форме и сорбированных полимерным гидрогелем // Вестник ОНЗ РАН. 2010. № 2. С. 137. https://doi.org/10.2205/2010NZ000036
- 5. Пашкова Г.В., Ревенко А.Г. Рентгенофлуоресцентное определение элементов в воде с использованием спектрометра с полным внешним отражением // Аналитика и контроль. 2013. Т. 17. № 2. С. 122
- Химченко С.В., Экспериандрова Л.П., Бланк А.Б. Сорбционно-рентгенофлуоресцентное определение микроэлементов в воде с использованием квазитвердых излучателей // Химия и технология воды. 2007. Т. 29. № 6. С. 506.
- 7. *Takao Moriyama*. Trace heavy element analysis for wastewater and river water by X-ray fluorescence spectrometry. Examples for ppm to sub ppm level analysis of heavy elements // The Rigaku J. 2009. V. 25. № 1. P. 13.
- Кузьмина Т.Г., Никашина В.А., Ромашова Т.В. Применение рентгенофлуоресцентного анализа для изучения процессов сорбции на клиноптилолитах, используемых в качестве геохимических барьеров // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2018. Т. 84. № 8. С. 15.
- 9. *Рунов В.К.* Сорбционно-люминесцентный анализ // Рос. хим. журн. 1994. Т. 3. № 1. С. 36.
- Саввин С.Б., Дедкова В.П., Швоева О.П. Сорбционно-спектроскопические и тест-методы определения ионов металлов на твердой фазе ионообменных материалов // Успехи химии. 2000. Т. 69. № 3. С. 203.

- Брыкина Г.Д., Марченко Д.Ю., Шпигун О.А. Твердофазная спектрофотометрия // Журн. аналит. химии. 1995. Т. 50. № 6. С. 484.
- 12. Иванов В.М., Кузнецова О.В. Химическая цветометрия: возможности метода, области применения и перспективы // Успехи химии. 2001. Т. 70. № 5. С. 411.
- Симакина Я.И., Кузьмин И.И., Фабелинский Ю.И., Чыонг Т.Х. Определение марганца(II) методом спектроскопии диффузного отражения // Тонкие химические технологии. 2017. Т. 12. № 5. С. 47.
- 14. Обуздина М.В., Руш Е.А. Исследование сорбционных характеристик модифицированных цеолитов методами инфракрасной и энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии // Вестн. Технол. ун-та. 2019. Т. 22. № 3. С. 24.
- Орешкин В.Н., Цизин Г.И., Внуковская Г.Л. Атомноадсорбционное/атомно-флуоресцентное определение следов элементов в природных водах с использованием атомизатора — микроколонки для концентрирования // Журн. аналит. химии. 1999. Т. 54. № 11. 755. С. 1163.
- Kubrakova I.V., Kudinova T.F., Formanovsky A.A., Kuz'min N.M., Tsysin G.I., Zolotov Yu.A. Determination of chromium(III) and chromium(VI) in river water by electrothermal atomic absorption spectrometry after sorption preconcentration in a microwave field // Analyst. 1994. V. 119. P. 2477.
- Цизин Г.И. Развитие методов концентрирования микрокомпонентов в России (1991–2010 гг.) // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66. № 11. С. 1135.
- 18. Павлюченко В.Н., Иванчев С.С. Композиционные полимерные гидрогели // Высокомолекулярные соединения. 2009. Т. 51А. № 7. С. 1075.
- 19. *Mahdavinia G.R., Pourjavadi A., Hosseinzadeh H., Zo-huriaan M.J.* Modified chitosan. Superabsorbent hydrogels from poly (acrylic acid-co-acrylamide) grafted chitosan with salt-and pH-responsiveness properties // Eur. Polym. J. 2004. V. 40. № 7. P. 1399.
- 20. ГОСТ Р 31870-2012. Вода питьевая. Определение содержания элементов методами атомной спектрометрии. М.: Стандартинформ, 2019.
- 21. Сенин В.Г., Шилобреева С.Н. Определение углерода комплексным методом "авторадиография-рентгеноспектральный микроанализ" // Заводск. лаборатория. 1994. № 8. С. 17.
- Щербакова Я.И., Ефимов Н.Н., Михайлова А.В., Саввин С.Б., Минин В.В. Особенности комплексообразования переходных металлов с гидрогелями // Журн. неорг. химии. 2013. Т. 58. № 7. С. 936.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЕТОСТЕРОИДОВ В МОЧЕ ЧЕЛОВЕКА С ПРИМЕНЕНИЕМ ДИСПЕРСИОННОЙ ЖИДКОСТНО-ЖИДКОСТНОЙ МИКРОЭКСТРАКЦИИ И УЛЬТРА ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ–МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

© 2021 г. Е. В. Дмитриева^{*a*, *}, А. З. Темердашев^{*a*}, А. К. Осипова^{*a*}

^аКубанский государственный университет ул. Ставропольская, 149, Краснодар, 350040 Россия *e-mail: catherine_dmitrieva@outlook.com Поступила в редакцию 27.04.2021 г. После доработки 07.05.2021 г. Принята к публикации 13.05.2021 г.

Предложен способ определения некоторых кетостероидов в моче человека, включающий ферментативный гидролиз с применением β -глюкуронидазы *E. coli* с последующими дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэсктракцией, дериватизацией аналитов гидроксиламином и детектированием методом обращенно-фазовой ультра ВЭЖХ–квадруполь-времяпролетной масс-спектрометрии. Оптимизация условий экстракции и получения производных исследуемых соединений позволила установить, что наивысшие степени извлечения достигаются при использовании смеси ацетон–хлороформ в качестве диспергента и экстрагента, а полнота протекания реакции дериватизации – при термостатировании пробы при 70°С в течение 90 мин. Предложенный способ характеризуется высокой чувствительностью (пределы обнаружения в диапазоне 0.1–0.25 нг/мл) и широким линейным диапазоном.

Ключевые слова: стероидные гормоны, ДЖЖМЭ, моча, дериватизация, гидроксиламин, ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием.

DOI: 10.31857/S0044450221110037

Стероидные гормоны являются регуляторами различных физиологических и биохимических процессов в организме человека. Все стероидные гормоны образуются из общего предшественника холестерола при протекании реакций гидроксилирования, окисления и восстановления. Среди стероидных гормонов выделяют следующие классы: эстрогены, андрогены, прогестины, минералокортикоиды, глюкокортикоиды, витамин D и его метаболиты [1, 2]. Определение данных соединений в биологических жидкостях человека требуется, прежде всего, в целях клинической диагностики ввиду их участия в патогенезе многих заболеваний и генетических нарушений [2, 3].

Обычно стероидные гормоны определяют в моче (усредненные концентрации за несколько часов—сутки), крови и слюне (определение в реальном времени) [4]. Результаты определения стероидов в реальном времени могут колебаться из-за эпизодического характера секреции гормонов [5, 6], а также циркадных ритмов [7], в то время как состав мочи не подвержен подобным колебаниям. Другими преимуществами мочи в качестве объекта анализа являются неинвазивность процедуры и простота получения больших объемов образца [8].

Стероидные гормоны проявляют биологическую активность на очень низких уровнях концентраций (нано- и пикомолярных) [3, 9, 10], поэтому для их определения требуется применение высокочувствительных методов.

Применяют различные способы подготовки проб мочи к анализу: жидкостно-жидкостную экстракцию [11–13], сорбционную микроэкстракцию на покрытии мешалки [14], проточную твердофазную микроэкстракцию [15], автоматизированную твердофазную экстракцию [16], дисперсионную жидкостно-жидкостную микроэкстракцию (ДЖЖМЭ) [8] и др. [17]. Среди перечисленных способов наиболее многообещающим является ДЖЖМЭ ввиду простоты, высоких факторов концентрирования и соответствия критериям "зеленой химии" [18]. В случае необходимости повышения чувствительности определения

Таблица 1. Условия масс-спектрометрического детектирования

Параметр	Значение
Температура в источнике ионизации, °С	250
Напряжение на капилляре, В	4000
Напряжение на экстрагирующей линзе, В	500
Давление газа-распылителя, мПа	0.1
Расход газа-осушителя, л/мин	5
Скорость сканирования, Гц	3
Диапазон сканирования масс, Да	150-1000
Давление газа-мишени, мТорр	1.5

стероидных гормонов возможно использование дериватизации для увеличения эффективности ионизации. Так, в обзорах [9, 19, 20] рассмотрено применение различных дериватизирующих агентов для малых молекул, в частности для стероидных гормонов. Некоторые из используемых реагентов коммерчески недоступны, в то время как другие, например дансил хлорид, приводят к уменьшению селективности хроматографического разделения и неспецифичной фрагментации дериватов [21]. Это обусловливает дополнительные требования к реагенту в случае применения дериватизации при подготовке проб.

Цель данного исследования — разработка простого, экспрессного и высокочувствительного способа определения стероидных гормонов различных классов, соответствующего критериям "зеленой химии".

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и реагенты. Использовали стандартные образцы тестостерона, дигидротестостерона, кортизона, гидрокортизона (кортизола), эстрона, прогестерона, 11α-гидроксипрогестеронаиметилтестостерона (внутренний стандарт) (Sigma-Aldrich, Германия); β-глюкуронидазу Escherichia coli (E. coli) (Roche Diagnostics, Германия); 50%-ный водный раствор гидроксиламина (Sigma-Aldrich, Германия). Ацетонитрил (Biosolve, Израиль) и метанол (J.T. Baker, Великобритания) для ВЭЖХ, муравьиную кислоту (98%) (Acros Organics), воду (18.2 MΩ см, Milli-Q) использовали для приготовления растворов и в качестве компонентов подвижной фазы. Ацетон, этанол, дихлорметан, трихлорметан и тетрахлорметан (99.9%), соляную кислоту (99%), муравьиную кислоту (98%), хлорид натрия, дигидрофосфат калия, сульфат натрия, мочевую кислоту, мочевину, креатинин, цитрат натрия, хлорид калия, хлорид кальция, хлорид аммония, оксалат калия, сульфат магния, дигидрофосфат натрия, гидрофосфат натрия, азид натрия, тетраборат натрия (бура) (99%) приобретали у фирмы "Вектон" (Россия).

Приготовление стандартных растворов. Стандартные растворы стероидных гормонов с концентрацией 1 мг/мл готовили в метаноле, градуировочные растворы и растворы контроля качества получали разбавлением стандартных растворов в метаноле. Фосфатный буферный раствор (50 мл, рН 6.5) готовили из дигидрофосфата калия, гидрофосфата натрия и азида натрия. Синтетическую мочу для оптимизации условий пробоподготовки готовили в соответствии с протоколом [22]. Все растворы хранили при 4°С.

Приборы и оборудование. Для определения аналитов использовали систему, состоящую из ультра высокоэффективного жидкостного хроматографа Bruker Elute и квадруполь-времяпролетного масс-спектрометра Bruker MaXis Impact с источником электрораспылительной ионизации (табл. 1) под управлением программного обеспечения Bruker Compass HyStar 4.1. Для разделения аналитов применяли колонку Phenomenex Kinetex C18 (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм) с соответствующей предколонкой. В качестве подвижной фазы использовали смесь 0.1%-ного раствора муравьиной кислоты в воде (элюент А) и 0.1%-ного раствора муравьиной кислоты в метаноле (элюент Б) в режиме градиентного элюирования (1.00 мин – 95% А, 2.70 мин – 40% А, 4.00 мин – 40% А, 5.00 мин - 10% А, 7.50 мин - 10% А, 7.51 мин -95% A, 9.00 мин – 95% A) при скорости потока подвижной фазы 0.4 мл/мин и температуре термостата 40°С. Образцы находились в автосамплере при 5°С, для анализа использовали 10 мкл образца.

Исследуемые образцы. Образы мочи получали от здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 45 лет, консервировали азидом натрия и хранили при -20° C.

Выбор дериватизирующего агента. В качестве дериватизирующего агента выбрали гидроксиламин, поскольку он обеспечивает высокую чувствительность определения, а реакция получения производных является простой и не требует специальных условий. Кроме того, возможен ввод реакционной смеси в хроматограф без дополнительных стадий очистки после получения производных. Гидроксиламин использовали ранее для определения стероидных гормонов в биологических жидкостях человека с высокой чувствительностью [3, 23, 24]. На схеме 1 приведена реакция получения производных при использовании гидроксиламина в качестве дериватизирующего агента.



Схема 1. Образование оксимов стероидных гормонов при дериватизации гидроксиламином.

Аналит	Брутто-формула	Моноизотопная масса, Да	[М+Н] ⁺ , Да	Погрешность определения массы, ppm	Время удерживания, мин
Тестостерон	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	288.2089	289.2162	0.7	5.2
Производное тестостерона	$C_{19}H_{29}NO_2$	303.2198	304.2271	2.6	5.4
Дигидротестостерон	$C_{19}H_{30}O_2$	290.2246	291.2319	0.7	5.5
Производное дигидротесто- стерона	$C_{19}H_{31}NO_2$	305.2355	306.2428	2.6	5.6
Кортизон	$C_{21}H_{28}O_5$	360.1937	361.2010	0.3	3.8
Производное кортизона	$C_{21}H_{30}N_2O_5$	390.2155	391.2227	2.0	3.8
Гидрокортизон	$C_{21}H_{30}O_5$	362.2093	363.2166	-0.3	3.9
Производное гидрокорти- зона	$C_{21}H_{32}N_2O_5$	392.2311	393.2384	1.8	3.9
Прогестерон	$C_{21}H_{30}O_2$	314.2246	315.2319	1.6	5.7
Производное прогестерона	$C_{21}H_{32}N_2O_2$	344.2464	345.2537	2.0	5.8
11α-Гидроксипрогестерон	$C_{21}H_{30}O_{3}$	330.2195	331.2268	0.3	4.5
Производное 11α- гидрокси- прогестерона	$C_{21}H_{32}N_2O_3$	360.2413	361.2486	1.9	4.9
Эстрон	$C_{18}H_{22}O_2$	270.1620	271.1693	3.7	4.9
Производное эстрона	$C_{18}H_{23}NO_2$	285.1729	286.1802	1.7	5.0
Метилтестостерон*	$C_{20}H_{30}O_2$	302.2246	303.2319	1.6	5.4
Производное метилтесто- стерона*	$C_{20}H_{31}NO_2$	317.2355	318.2428	2.5	5.5

Таблица 2. Условия масс-спектрометрического детектирования аналитов

* Внутренний стандарт.

Основной недостаток использования гидроксиламина — возможное расщепление пиков на хроматограммах из-за образования нескольких стереоизомеров. Однако в том случае, когда за счет оптимизации условий градиентного элюирования не удается добиться образования одного пика без ухудшения селективности, возможно интегрирование расщепленного пика без ухудшения аналитических характеристик методики.

Оптимизация условий дериватизации. Для достижения полноты протекания реакции оптимизировали такие параметры, как концентрация гидроксиламина, температура и время термостатирования. Время реакции варьировали в диапазоне от 30 до 120 мин, температуру – от комнатной до 70°С, а концентрацию гидроксиламина между 0.4 и 3.2 М. Полноту протекания реакции оценивали по наличию пиков производных и отсутствию пиков исходных соединений на хроматограммах (табл. 2).

Оптимизация условий дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции. Для нахождения оптимального сочетания экстрагента и диспергента проводили следующий эксперимент: к 1 мл синтетической мочи, содержащей исследуемые соединения и внутренний стандарт с концентрациями по 100 нг/мл, добавляли 300 мкл фосфатного буферного раствора (рН 6.5). Затем при помощи шприца в образец вводили смесь экстрагента (100 мкл) и диспергента (500 мкл), после чего перемешивали смесь на вортексе в течение 15 с и центрифугировали 10 мин при 10000 об/мин. Нижнюю фазу упаривали досуха в токе азота и добавляли раствор гидроксиламина (метанол—вода (1:1)) для получения производных с последующим термостатированием и анализом образца.

В качестве диспергентов рассматривали ацетон, метанол, этанол и ацетонитрил, которые хорошо растворяются как в образце, так и в экстрагенте и способствуют образованию большой поверхности контакта фаз. Ди-, три- и тетрахлорметан использовали в качестве диспергентов, поскольку они плохо растворяются в водном образце, а также имеют более высокую плотность, тем самым удовлетворяя критериям, предъявляемым к данным растворителям.

Для достижения наивысших степеней извлечения использовали многофакторный подход план Бокса-Бенкена [25—28], который используется для оценки влияния различных факторов (независимых переменных) на аналитический сигнал (например, площадь пика — зависимая переменная), а также позволяет оценить взаимодействие между факторами.

Рассматривали четыре фактора: объем экстрагента (50, 100 и 150 мкл), объем диспергента (450, 500 и 550 мкл), количество хлорида натрия для оценки высаливающего эффекта (0, 50 и 100 мг) и количество тетрабората натрия (0, 5 и 10 мг) для изучения влияния pH на степени извлечения. Для обработки полученных результатов использовали ПО STATISTICA 10 (Statsoft).

Эксперимент проводили следующим образом: к 1 мл синтетической мочи, содержащей исследусоединения и внутренний емые станларт (100 нг/мл), хлорид натрия (0, 50 и 100 мг) и тетраборат натрия (0, 5 и 10 мг) добавляли 0.3 мл фосфатного буферного раствора, затем шприцем вводили смесь экстрагента и диспергента. Смесь перемешивали на вортексе в течение 15 с (без перемешивания степени извлечения целевых соединений неудовлетворительные) и центрифугировали 10 мин при 10000 об/мин. Нижнюю фазу упаривали досуха в токе азота и добавляли раствор гидроксиламина (метанол-вода (1 : 1)) для получения производных с последующим термостатированием и анализом образца.

Стоит отметить, что при анализе реальных образцов перед процедурой микроэкстракции проводили деконъюгацию глюкуронидов в условиях, оптимизированных нами ранее [8]: 30 мин при 50°С в присутствии фосфатного буферного раствора (pH 6.5) и фермента β-глюкуронидазы *E. coli*.

После выбора оптимальных условий пробоподготовки оценивали аналитические характеристики методики.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оптимизация условий дериватизации. Установили, что использование концентрации гидроксиламина не менее 1.6 М обеспечивает полноту протекания реакции при температуре термостатирования 70°С и времени реакции не менее 90 мин, поэтому данные условия выбрали для дальнейших экспериментов. При более низкой концентрации дериватизирующего агента и меньших времени и температуре на хроматограммах наблюдали исходные соединения или монои дизамещеные дериваты, например, для кортизона, кортизола, прогестерона и 11α-гидроксипрогестерона. Оптимизация условий дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции. При оптимизациии типов экстрагента и диспергента установили, что две комбинации растворителей, а именно: ацетон—трихлорметан и ацетонитрил—трихлорметан, обеспечивают достаточные степени извлечения. При использовании ацетонитрила степени извлечения исследуемых глюкокортикоидов (кортизона и кортизола) несколько выше, в то время как ацетон приводит к увеличению степени извлечения остальных соединений, поэтому его выбрали для дальнейших экспериментов в качестве диспергента, а трихлорметан — в качестве экстрагента.

Использование плана Бокса-Бенкена позволило установить уровни факторов, обеспечивающие количественное извлечение всех аналитов. Все полученные модели были статистических значимыми ($R_{adj}^2 > 0.9$), что указывает на высокую адекватность полученных результатов. Ввиду оптимизации условий для соединений с различными физико-химическими свойствами, в некоторых случаях выбирали компромиссные значения. В результате установили, что добавление хлорида и тетрабората натрия мало влияет на степени извлечения, в то время как объем экстрагента оказывает большое влияние - с увеличением объема степени извлечения возрастают, поэтому выбрали величину 150 мкл. Влияние объема диспергента на степени извлечения меньше, величина 500 мкл обеспечивает наиболее высокие степени извлечения. В этих условиях степени извлечения аналитов составили 79-98%, при этом степени извлечения глюкокортикоидов оказались самыми низкими по сравнению с остальными соединениями.

Таким образом, выбрали следующие оптимальные условия пробоподготовки: в микроцентрифужную пробирку емк. 2 мл добавляют 1 мл образца, содержащего внутренний стандарт метилтестостерон (100 нг/мл), и 0.3 мл фосфатного буферного раствора (рН 6.5), содержащего фермент β -глюкуронидазу *E. coli*, образец инкубируют в течение 30 мин при 50°С. После охлаждения образца до комнатной температуры в него вводят смесь хлороформа и ацетона (150 и 500 мкл соответственно) при помощи шприца, перемешивают на вортексе 15 с и центрифугируют 10 мин при 10000 об/мин. Нижний слой переносят в виалу, упаривают досуха в токе азота, сухой остаток растворяют в 100 мкл 1.6 М раствора гидроксиламина (метиловый спирт-вода (1:1)) и термостатируют виалу в течение 90 мин при 70°С с последующим анализом.

Валидация разработанного способа. Предложенный способ валидировали в соответствии с критериями FDA по валидации биоаналитических методик [29]. При валидации методики ис-

Аналит	Предел обнаружения, нг/мл	Предел определения, нг/мл	Линейный диапазон, нг/мл	R^2
Тестостерон	0.1	0.25	0.25-100	0.999
Дигидротестостерон	0.1	0.25	0.25-100	0.999
Кортизон	0.25	1.0	1.0-100	0.997
Гидрокортизон	0.25	1.0	1.0-100	0.995
Прогестерон	0.25	0.5	0.5-100	0.996
11α-Гидроксипрогестерон	0.25	0.5	0.5-100	0.998
Эстрон	0.1	0.25	0.25-100	0.996

Таблица 3.	Чувствительность	методики и	линейный	диапазон
------------	------------------	------------	----------	----------

пользовали синтетическую мочу ввиду сложности получения воспроизводимой матрицы с концентрациями стероидных гормонов ниже предела обнаружения.

Градуировочные зависимости строили в диапазоне концентраций 0.1–100 нг/мл (0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100 нг/мл). Предел обнаружения устанавливали как концентрацию аналита, обеспечивающую соотношение сигнал : шум не менее 3 : 1, а предел определения соответствовал концентрации, определяемой с погрешностью менее 15%. Результаты представлены в табл. 3.

Перекрестное загрязнение оценивали путем анализа холостого раствора после анализа 100 нг/мл раствора образца, при этом на хроматограмме холостого раствора не наблюдали пиков, соответствующих определяемым соединениям.

Правильность и воспроизводимость устанавливали при помощи анализа растворов контроля качества низкой (2.5 нг/мл), средней (10 нг/мл) и

Таблица 4. Аналитические характеристики методики	(n =	15)
--	------	----	---

	Концентрация	В оди	н день	В разные дни		
Аналит	раствора контроля качества, нг/мл	<i>e</i> _r , %	<i>s</i> _r , %	e ₁ , %	<i>s</i> _r , %	
Тестостерон	2.5	-11.2	13.2	-12.6	14.1	
	10	-3.5	8.2	-5.1	10.8	
	50	2.1	5.6	2.6	7.9	
Дигидротестостерон	2.5	-11.7	11.6	-13.7	12.8	
	10	-4.2	7.2	-5.6	9.1	
	50	1.5	4.1	2.4	5.4	
Кортизон	2.5	-14.2	13.4	-14.6	14.1	
	10	-5.1	9.2	-6.7	9.6	
	50	2.6	5.1	1.7	6.5	
Гидрокортизон	2.5	-12.5	13.2	-14.6	13.8	
	10	-8.3	8.6	-7.5	10.5	
	50	1.1	4.2	2.6	6.0	
Прогестерон	2.5	-12.7	11.8	-13.2	14.5	
	10	-5.5	7.9	-4.6	9.8	
	50	0.6	3.6	3.2	5.3	
11α-Гидроксипрогестерон	2.5	-13.5	14.3	-14.5	14.8	
	10	-4.8	9.1	-5.2	10.2	
	50	1.8	5.7	4.3	6.7	
Эстрон	2.5	-12.4	12.0	-13.9	13.4	
	10	-5.0	6.6	-7.8	8.5	
	50	1.4	2.5	1.3	4.7	

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 11 2021



Рис. 1. Хроматограммы по выделенному иону (*m*/*z* 304.2271) модельного образца (а) и образца мочи (б) с добавками 0 (1), 10 (2), 50 (3), 100 (4) нг/мл тестостерона (I).

высокой (50 нг/мл) концентрации в течение одного и разных дней. Воспроизводимость выражали как относительное стандартное отклонение (s_r), а правильность находили по уравнению (1):

$$e_r = ((c_{\text{onp}} - c_{\text{reop}})/c_{\text{reop}}) \times 100,$$
 (1)

полученные результаты представлены в табл. 4.

Стабильность проб растворов контроля качества в автосамплере, прошедших через все этапы пробоподготовки, оценивали в течение 48 ч при 5°С. Установили, что отклонения в результатах не превышали 15%. Длительную стабильность оценивали в течение месяца путем проведения трех циклов заморозки (-20° С) и разморозки образцов контроля качества до комнатной температуры. В полученных результатах не было значительных отличий.

Анализ реальных образцов. Предложенный способ использовали для анализа реальных образцов с применением метода стандартной добавки. Для этого в образец мочи добавляли смеси аналитов трех концентраций (10, 50 и 100 нг/мл). На рис. 1 в качестве примера приведены хроматограммы модельного образца и образца мочи с добавкой тестостерона (10, 50 и 100 нг/мл). Степени извлечения составили 76–95%, относительное стандартное отклонение не превышало 15%, что свидетельствует о пригодности методики для анализа реальных образцов. * * *

Таким образом, разработан чувствительный, простой и воспроизводимый способ определения кетостероидов. Дериватизация с гидроксиламином позволила значительно повысить чувствительность методики для большинства соединений по сравнению с нашей предыдущей работой [8], особенно для эстрона. Анализ реальных образцов показал возможность применения предложенного способа для определения кетостероидов.

Инновационный проект выполнен при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках Конкурса научно-инновационных проектов, ориентированных на коммерциализацию № НИП-20.1/4, с использованием научного оборудования ЦКП "Эколого-аналитический центр" Кубанского государственного университета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Norman A.W. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. 2nd Ed. New Delhi, India: Academic Press, 2003. P. 3166. https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00606-4
- Biason-Lauber A. Disorders of steroid synthesis and metabolism / Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases / Eds. Blau N., Duran M., Blaskovics M.E., Gibson K.M. Berlin, Heidelberg: Springer, 2003. P. 551. https://doi.org/10.1007/978-3-642-55878-8 35

 Häkkinen M.R., Murtola T., Voutilainen R., Poutanen M., Linnanen T., Koskivuori J., Lakka T., Jääskeläinen J., Auriola S. Simultaneous analysis by LC–MS/MS of 22 ketosteroids with hydroxylamine derivatization and underivatized estradiol from human plasma, serum and prostate tissue // J. Pharm. Biomed. Anal. 2019. V. 164. P. 642. doi.org/

https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.11.035

- Márta Z., Bobály B., Fekete J., Magda B., Imre T., Mészáros K.V., Bálint M., Szabó P.T. Simultaneous determination of thirteen different steroid hormones using micro UHPLC–MS/MS with on-line SPE system // J. Pharm. Biomed. Anal. 2018. V. 150. P. 258. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.12.014
- 5. West C.D., Mahajan D.K., Chavré V.J., Nabors C.J., Tyler F.H. Simultaneous measurement of multiple plasma steroids by radioimmunoassay demonstrating episodic secretion // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1973. V. 36. № 6. P. 1230.

https://doi.org/10.1210/jcem-36-6-1230

6. Oerter K.E., Guardabasso V., Rodbard D. Detection and characterization of peaks and estimation of instantaneous secretory rate for episodic pulsatile hormone secretion // Comput. Biomed. Res. 1986. V. 19. № 2. P. 170.

https://doi.org/10.1016/0010-4809(86)90014-5

 Chung S., Son G.H., Kim K. Circadian rhythm of adrenal glucocorticoid: its regulation and clinical implications // Biochim. Biophys. Acta. 2011. V. 1812. № 5. P. 581.

https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.02.003

- Dmitrieva E., Temerdashev A., Azaryan A., Gashimova E. Quantification of steroid hormones in human urine by DLLME and UHPLC-HRMS detection // J. Chromatogr. B: Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 2020. V. 159. Article 122390. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122390
- Higashi T., Ogawa S. Chemical derivatization for enhancing sensitivity during LC/ESI–MS/MS quantification of steroids in biological samples: A review // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 2016. V. 162. P. 57. https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.10.003
- Higashi T. Trace determination of steroids causing agerelated diseases using LC/MS combined with detection-oriented derivatization // Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). 2006. V. 54. № 11. P. 1479. https://doi.org/10.1248/cpb.54.1479
- He G., Wu Y., Lu J. Doping control analysis of 13 steroids and structural-like analytes in human urine using Quadrupole-Orbitrap LC-MS/MS with parallel reaction monitoring (PRM) mode // Steroids. 2018. V. 131. P. 1.

https://doi.org/10.1016/j.steroids.2017.12.011

- Pitarch-Motellón J., Sancho J.V., Ibáñez M., Pozo O., Roig-Navarro A.F. Determination of selected endogenous anabolic androgenic steroids and ratios in urine by ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry and isotope pattern deconvolution // J. Chromatogr. A. 2017. V. 1515. P. 172. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.08.006
- 13. *Rincon A.V., Ostner J., Heistermann M., Deschner T.* Measuring urinary cortisol and testosterone levels in male Barbary macaques: A comparison of EIA and

LC-MS // Gen. Comp. Endocrinol. 2019. V. 281. P. 117.

https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2019.05.017

- 14. *Huang X., Yuan D., Huang B.* Determination of steroid sex hormones in urine matrix by stir bar sorptive extraction based on monolithic material and liquid chromatography with diode array detection // Talanta. 2008. V. 75. № 1. P. 172. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.10.052
- 15. Saito K., Yagi K., Ishizaki A., Kataoka H. Determination of anabolic steroids in human urine by automated in-tube solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography-mass spectrometry // J. Pharm. Biomed. Anal. 2010. V. 52. № 5. P. 727. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.02.027
- 16. Andersen D.W., Linnet K. Screening for anabolic steroids in urine of forensic cases using fully automated solid phase extraction and LC-MS-MS // J. Anal. Toxicol. 2014. V. 38. № 9. P. 637. https://doi.org/10.1093/jat/bku098
- Denver N., Khan S., Homer N.Z.M., MacLean M.R., Andrew R. Current strategies for quantification of estrogens in clinical research // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 2019. V. 192. Article 105373. https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.04.022
- Leong M.-I., Fuh M.-R., Huang S.-D. Beyond dispersive liquid—liquid microextraction // J. Chromatogr. A. 2014. V. 1335. P. 2. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.02.021
- 19. *Higashi T., Shimada K.* Derivatization of neutral steroids to enhance their detection characteristics in liquid chromatography–mass spectrometry // Anal. Bioanal. Chem. 2004. V. 378. № 4. P. 875. https://doi.org/10.1007/s00216-003-2252-z
- Zhang T.-Y., Li S., Zhu Q.-F., Wang Q., Hussain D., Feng Y.-Q. Derivatization for liquid chromatography– electrospray ionization-mass spectrometry analysis of small-molecular weight compounds // Trends Anal. Chem. 2019. V. 119. Article 115608. https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.07.019
- 21. Kushnir M.M., Rockwood A.L., Bergquist J., Varshavsky M., Roberts W.L., Yue B., Bunker A.M., Meikle A.W. High-sensitivity tandem mass spectrometry assay for serum estrone and estradiol // Am. J. Clin. Pathol. 2008. V. 129. № 4. P. 530. https://doi.org/10.1309/LC03BHO5XJPJYEKG
- 22. Sarigul N., Korkmaz F., Kurultak İ. A new artificial urine protocol to better imitate human urine // Sci. Rep. 2019. V. 9. Article 20159. https://doi.org/10.1038/s41598-019-56693-4
- 23. Keski-Rahkonen P., Huhtinen K., Poutanen M., Auriola S. Fast and sensitive liquid chromatography-mass spectrometry assay for seven androgenic and progestagenic steroids in human serum // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 2011. V. 127. № 3-5. P. 396. https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.06.006
- 24. *Liu Q., Chi Q., Fan R.-T., Tian H.-D., Wang X.* Quantitative-profiling method of serum steroid hormones by hydroxylamine-derivatization HPLC–MS // Nat. Prod. Bioprospect. 2019. V. 9. № 3. P. 201. https://doi.org/10.1007/s13659-019-0204-3

- Mousavi L., Tamiji Z., Khoshayand M.R. Applications and opportunities of experimental design for the dispersive liquid–liquid microextraction method – A review // Talanta. 2018. V. 190. P. 335. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.08.002
- 26. Ferreira S.L.C., Bruns R.E., Ferreira H.S., Matos G.D., David J.M., Brandão G.C., da Silva E.G.P., Portugal L.A., dos Reis P.S., Souza A.S., dos Santos W.N.L. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods // Anal. Chim. Acta. 2007. V. 597. № 2. P. 179. https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.07.011
- 27. *Ebrahimi-Najafabadi H., Leardi R., Jalali-Heravi M.* Experimental design in analytical chemistry – Part I:

Theory // J AOAC Int. 2014. V. 97. № 1. P. 3. https://doi.org/10.5740/jaoacint.sgeebrahimi1

- Bezerra M.A., Santelli R.E., Oliveira E.P., Villar L.S., Escaleira L.A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry // Talanta. 2008. V. 76. № 5. P. 965. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019
- 29. Food and Drug Administration Gguidance. Bioanalytical Method Validation. Guidance for Industry. https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioanalytical-Method-Validation-Guidance-for-Industry.pdf, 2018 (02.04.2021).

———— ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ ——

УДК 543

НОВЫЙ ДЕРИВАТИЗИРУЮЩИЙ АГЕНТ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТАБОЛИТОВ НИТРОФУРАНОВ В КУРИНЫХ ЯЙЦАХ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ— ТАНДЕМНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

© 2021 г. А. О. Мелехин^{а, b}, В. В. Толмачева^{а, *}, Е. Г. Шубина^b, С. Г. Дмитриенко^a, В. В. Апяри^a, А. И. Грудев^b, Ю. А. Золотов^a

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет Ленинские горы, 1, стр. 3, ГСП-1, Москва, 119991 Россия ^bЦентральная научно-методическая ветеринарная лаборатория ул. Оранжерейная, 23, Москва, 111622 Россия *e-mail: nikatolm@mail.ru Поступила в редакцию 26.04.2021 г. После доработки 14.05.2021 г. Принята к публикации 14.05.2021 г.

5-Нитро-2-фуральдегид предложен в качестве нового дериватизирующего агента при определении четырех метаболитов нитрофуранов — 3-амино-2-оксазолидинона, 3-амино-5-метилморфолино-2-оксазолидинона, 1-аминогидантоина и семикарбазида в куриных яйцах методом ВЭЖХ с тандемным масс-спектрометрическим детектированием. Идентифицированы продукты реакции дериватизации. Показано, что ими являются исходные нитрофураны — фуразолидон, фуралтадон, нитрофурантоин и нитрофуразон соответственно. Пробоподготовка включает кислотный гидролиз и дериватизацию, удаление жиров экстракцией гексаном и дальнейшую очистку экстрактов на картриджах, заполненных сверхсшитым полистиролом Диапак П-3. Способ обеспечивает количественное выделение метаболитов (степени выделения составляют от 95 до 106%) и хорошую воспроизводимость ($s_r \leq 0.13$).

Ключевые слова: метаболиты нитрофуранов, 5-нитро-2-фуральдегид, сверхсшитый полистирол, твердофазная экстракция, яйца, ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием. **DOI:** 10.31857/S0044450221110086

Нитрофураны представляют собой класс синтетических антибактериальных препаратов, которые используют в практической медицине с середины 20 века. Препараты нитрофурановой группы обладают широким спектром антимикробного действия и активны в отношении многих грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также трихомонад, лямблий, трипаносом и ряда других микроорганизмов, включая и те их штаммы, которые устойчивы к антибиотикам и сульфаниламидным препаратам [1]. До недавнего времени эти антимикробные препараты широко применяли в животноводстве в качестве стимуляторов роста, а также в ветеринарной практике для профилактики и лечения некоторых бактериальных инфекций у сельскохозяйственных животных, рыб, пчел и для уничтожения или замедления роста бактерий в аквакультурной промышленности [2].

В животноводстве чаще всего используют фуразолидон, фуралтадон, нитрофурантоин и нитрофуразон (фурацилин). Характерной чертой

этих нитрофуранов является быстрый метаболизм. приводящий к образованию основных метаболитов – 3-амино-2-оксазолидинона, 3-амино-5метилморфолино-2-оксазолидинона, 1-аминогидантоина и семикарбазида соответственно [3]. Эти метаболиты могут оставаться в организме животного в течение недель, возможно, даже месяцев в виде связанных с белками соединений. После того как было установлено, что метаболиты нитрофуранов обладают мутагенными и канцерогенными свойствами [4], во многих странах, включая Россию, их использование в ветеринарии было полностью запрещено [5, 6]. В Европейском и Таможенном союзах установлены максимально допустимые уровни (МДУ) остаточных количеств метаболинитрофуранов в продуктах тов питания (1 мкг/кг). Однако мониторинг качества пищевых продуктов, проводимый в разных странах, указывает на то, что, несмотря на установленный законом запрет, их продолжают использовать по причине высокой антибактериальной активности и низкой стоимости [7-10]. Таким образом, задача определения метаболитов нитрофуранов в пищевых продуктах животного происхождения на уровне МДУ по-прежнему остается актуальной.

В настоящее время идентификацию и определение метаболитов нитрофуранов в пищевых продуктах (в мясе [11–14], в том числе курином [15-17], яйцах [13, 15, 17-20], меде [13, 16, 20], молоке [13, 16, 21, 22], морепродуктах [23-26]) чаще всего проводят методом ВЭЖХ-тандемной массспектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС). Проблемы, возникающие при их определении, в основном связаны с пробоподготовкой: необходимостью проведения кислотного гидролиза – для освобождения метаболитов, связанных с белками, дериватизации – для получения более гидрофобных производных, дополнительных методов очистки – для удаления мешающих компонентов и минимизации матричных эффектов. И, наконец, еще одна проблема связана с высокой стоимостью стандартных образцов метаболитов и продуктов их дериватизации. На этом фоне перспективен поиск как новых дериватизирующих агентов, так и новых вариантов пробоподготовки, в том числе основанных на твердофазной экстракции (ТФЭ).

Во всех официальных методиках [27–29] и работах, перечисленных выше, кислотный гидролиз и дериватизацию проводят в одну стадию путем длительного нагревания (не менее 16 ч при 37–40°С) анализируемых образцов с 0.1–0.2 М соляной кислотой и дериватизирующим агентом, в качестве которого чаще всего используют 2-нитробензальдегид (**2-НБА**). В большинстве исследований гидролизат, содержащий производные метаболитов, дополнительно очищают с помощью ТФЭ [11, 13, 19–21, 23, 26] или жидкостно-жидкостной экстракции [12, 14–18, 22, 24, 25, 27].

Помимо 2-НБА для дериватизации используют, хотя и значительно реже, другие дериватизирующие агенты. Так, например, 2-нафтальдегид [30], 2,4-динитрофенилгидразин [31] и *п*-диметиламинобензальдегид [32] использовали в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием, а 2-гидрокси-1-нафтальдегид [33, 34], 2-(11Н-бензо-[а]-карбазол-11-ил)этилхлорформиат [35], флуоренилметилоксикарбонил хлорид [36], 4-(карбазол-9-ил)бензилхлорформиат [37], 7-(диэтиламино)-2-оксохромен-3-карбальдегид [38] и 4-(акридон-10-ил)бензальдегид [39] – с флуоресцентным детектированием.

В настоящей работе для дериватизации метаболитов нитрофуранов предложено использовать новый дериватизирующий агент 5-нитро-2-фуральдегид (**5-НФА**), а для очистки гидролизата – сверхшитый полистирол (**ССПС**), которые ранее для этих целей не применяли. Важно отметить, что метаболиты нитрофуранов взаимодействуют с 5-НФА с образованием соответствующих исходных нитрофуранов. Таким образом, при использовании этого дериватизирующего агента становится возможным заранее выбрать условия пробоподготовки и определения с помощью нитрофуранов, а не продуктов дериватизации метаболитов, что ускоряет анализ и снижает его стоимость.

Цель настоящей работы состояла в изучении особенностей дериватизации метаболитов нитрофуранов с 5-НФА, идентификации полученных продуктов и оценке возможности использования ССПС Диапак П-3 для очистки гидролизата, полученного в процессе пробоподготовки куриных яиц перед ВЭЖХ-МС/МС-определением.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы. Использовали метанол для ВЭЖХ, ацетонитрил для ВЭЖХ, муравьиную кислоту, *н*-гексан (Fisher Scientific Inc., США), 5-нитро-2фуральдегид (Sigma-Aldrich, США), соляную кислоту ч. д. а., гидрофосфат калия ч. д. а., трихлоруксусную кислоту ч. д. а., сверхсшитый полистирол Диапак П-3 (БиоХимМак, Россия). Последний перед использованием активировали ацетонитрилом. Очищенную воду получали с помощью системы Milli-Q Synthesis (Millipore, США).

В качестве стандартных образцов использовали фуразолидон (Φ 3), фуралтадон (Φ Д), нитрофурантоин (**H** Φ **T**), нитрофуразон (**H** Φ), 3-амино-2-оксазолидинон (АОЗ), 3-амино-5-метилморфолино-2-оксазолидинон (АМОЗ), 1-аминогидантоина (АГД) гидрохлорид, семикарбазида (СЕМ) гидрохлорид с содержанием основного вещества не менее 95.0% (Sigma-Aldrich, США). В качестве внутренних стандартов метаболитов нитрофуранов использовали D5-3-амино-5-метилморфолино-2-оксазолидинон (D5-AMO3), 13С3аминогидантоин (13С3-АГД), D4-3-амино-2-окса-(D4-AO3), 15N,13С-семикарбазид золидинон (15N,13C-CEM) с содержанием основного вещества не менее 99.0% (Witega, Германия).

Исходные растворы нитрофуранов и их метаболитов с концентрацией 200 мкг/мл готовили растворением соответствующей навески в метаноле. Растворы хранили при -20°С не более шести месяцев. Растворы смеси нитрофуранов и метаболитов нитрофуранов с концентрацией 1000 нг/мл готовили путем разбавления исходных веществ в метаноле. Аналогичным образом готовили раствор смеси внутренних стандартов с концентрацией 1000 нг/мл. Срок хранения смесей составлял 1 мес. Рабочие растворы готовили разбавлением исходных метанолом в день использования.

Анализируемые образцы. Использовали образцы яиц, собранные Центральной научно-методической ветеринарной лабораторией (Москва, Россия) в 2021 г. в процессе государственно мониторинга пищевой продукции. Образцы хранили при —4°С в холодильнике.

Аппаратура. Использовали высокоэффективный жидкостной хроматограф ExionLC (Shimadzu, Япония) в сочетании с тройным квадрупольдетектором ным масс-спектрометрическим SCIEX Triple QuadTM 5500 (AB Sciex, Сингапур), оснащенный бинарным насосом и автосамплером. Разделение проводили на колонке Acclaim™ 120 C18 (100 × 2.1 мм) с диаметром зерна сорбента 3.0 мкм (Thermo Scientific, США) в режиме градиентного элюирования. Применяли аналитические весы Sartorius AC 121S (Sartorius, Германия), систему подготовки деионизированной воды Milli-Q Synthesis (Millipore, США), центрифугу лабораторную Thermo Scientific SL40R (Thermo Scientific, США), систему упаривания закрытого типа TurboVapII.CaliperLifeSciences (Caliper Life Sciences, США), вакуумную установку для $T\Phi \Im$ М6 (Манифолд, Россия), шейкер для пробирок MultiReax (Heidolph, Германия).

Условия хроматографического разделения и детектирования. Использовали подвижные фазы, состоящие из 0.5%-ной муравьиной кислоты в воде (А) и 0.5%-ной муравьиной кислоты в смеси ацетонитрила и метанола (50 : 50) (Б). Разделение проводили, применяя следующую программу градиентного элюирования: 20–80% В (0–7 мин), 80% В (7–7.5 мин), 80–20% В (7.5–8 мин). Скорость потока составляла 0.3 мл/мин. Температуру колонки и автосамплера поддерживали во время работы на уровне 40 и 15°С соответственно, объем вводимой пробы составлял 10 мкл.

Тройной квадрупольный масс-спектрометр (SCIEX 5500 Triple QuadTM 5500) настраивали на сбор данных в режиме мониторинга множественных реакций (**MMP**). Установлены следующие оптимальные значения параметров: напряжение на распыляющем капилляре 4500 В; температура испарителя 550°С; в качестве газа завесы и газа в ячейке использовали азот; давление газа соударений составляло 10 фунтов на квадратный дюйм (psi), давление газа завесы – 35 psi, давление осущающего и распыляющего газов – 50 psi; входной потенциал 10 В.

Идентификация и определение. Продукты дериватизации метаболитов нитрофуранов с 5-НФА идентифицировали по полученным хроматограммам с использованием программного продукта Analyst 1.6.3. (AB Sciex, Сингапур). Неизвестную концентрацию аналита в пробе определяли методом градуировочного графика (матричная градуировка). Аналитическим сигналом служило отношение площади пика аналита к площади пика соответствующего внутреннего стандарта.

Пробоподготовка. В центрифужную пробирку емк. 50 мл вносили (2.00 ± 0.02) г тщательно из-

мельченной пробы куриных яиц, добавляли 40 мкл раствора внутреннего стандарта (1000 нг/мл), 100 мкл метанола, 8 мл 0.1 М соляной кислоты и 100 мкл 0.2 М 5-НФА в метаноле для проведения дериватизации. Содержимое пробирки перемешивали на шейкере в течение 20 мин и помещали в термостат на 16 ч при 37°С. После кислотного гидролиза и дериватизации образцы охлаждали до комнатной температуры, добавляли 1 мл 20%ного раствора трихлоруксусной кислоты для осаждения белков, перемешивали на шейкере в течение 10 мин. Затем добавляли 10 мл деионизированной воды, доводили значение рН до 4 добавлением раствора K₂HPO₄ (1 M раствор), добавляли 5 мл гексана для обезжиривания пробы, перемешивали на шейкере в течение 10 мин и центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 мин. Гексан удаляли, а водный слой очищали методом ТФЭ с помошью картрилжа шприцевого типа. заполненного 30 мг ССПС (30 × 10 мм или 10 × 6 мм). Твердофазную экстракцию проводили на вакуумной установке для ТФЭ (Манифолд Мб, Россия). Картридж кондиционировали 2 мл ацетонитрила и 3 мл деионизированной воды. Перед элюированием картридж промывали 3 мл деионизированной воды, а затем элюировали аналиты 2 мл ацетонитрила. Элюаты упаривали в атмосфере азота при 40°С досуха, вновь растворяли в 0.5 мл смеси подвижных фаз А и Б (80:20) и использовали для дальнейшего ВЭЖХ–МС/МС-анализа.

Степень извлечения. Степени извлечения метаболитов нитрофуранов из яиц определяли, вводя в образцы яиц, не содержащих исследуемых соединений, известные количества добавок метаболитов: 0.5, 1 и 20 нг/г. Степени выделения (R, %) рассчитывали по формуле:

$$R(\%) = (c/c_0) \times 100,$$

где c — найденное значение концентрации аналита в образце, нг/г; c_0 — значение концентрации добавки, нг/г.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Дериватизация и идентификация продуктов дериватизации. Известно, что метаболиты нитрофуранов в кислых растворах вступают в реакцию конденсации с 2-нитробензальдегидом с образованием 2-нитрофенильных производных — оснований Шиффа. По аналогии можно предположить, что в случае 5-нитро-2-фуральдегида продуктами такого взаимодействия будут исходные нитрофураны, образующиеся в процессе протекания реакции конденсации в соответствии со схемой, приведенной на рис. 1.

Для ВЭЖХ–МС/МС-идентификации продуктов дериватизации, которыми, как отмечено выше, являются исходные нитрофураны, использовали метод ММР. Стандартные растворы нитро-



Рис. 1. Предполагаемая схема взаимодействия 5-нитро-2-фуральдегида с метаболитами нитрофуранов.

фуранов (0.1 мкг/мл) вводили непосредственно в масс-спектрометр для получения ионов-предшественников и характерных дочерних ионов. В качестве ионов-предшественников выбрали характерные молекулярные ионы; для каждого соединения контролировали два иона-продукта. Для количественной оценки отслеживали наиболее интенсивный переход ММР, а также второй переход для подтверждения. Потенциал декластеризации и энергия соударений двух наиболее распространенных переходов оптимизировали в режимах положительных или отрицательных ионов. Фуразолидон и фуралтадон образуют протонированные формы [М + Н]⁺, нитрофурантоин и нитрофуразон образуют ионы [M – H][–]. Наилучшие условия ионизации получили при использовании муравьиной кислоты в качестве добавки. Параметры ММР для нитрофуранов и внутренних стандартов приведены в табл. 1.

При выборе условий дериватизации варьировали время, температуру, концентрацию 5-НФА и значение pH реакционной смеси (рис. 2). О выходе продуктов судили, сравнивая значения площадей хроматографических пиков. Как видно из рис. 2a, реакция между 5-НФА и метаболитами протекает быстро даже при комнатной температуре, максимальный отклик детектора достигается спустя 15 мин и остается неизменным в течение 75 мин. Максимальный выход продуктов практически не зависит от температуры в диапазоне 20–40°С (рис. 26). Выход продуктов увеличивается при увеличении концентрации 5-НФА в реакционной смеси от 0.1 до 1 мМ и не изменяется при дальнейшем увеличении концентрации до 8 мМ (рис. 2в). Данные, приведенные на рис. 2г, указывают на то, что реакция нуклеофильного присоединения 5-НФА к метаболитам нитрофуранов сильно зависит от рН: максимальный выход продуктов наблюдается в интервале рН 1.0–2.5. Учитывая условия кислотного гидролиза, во всех дальнейших исследованиях дериватизацию проводили при рН 1.0.

Для оценки возможности проведения дериватизации метаболитов нитрофуранов одновременно с кислотным гидролизом моделировали условия, регламентированные действующим ГОСТ [29], в котором в качестве дериватизирующего агента используют 2-НБА. Для этого к 40 мкл раствора смеси метаболитов (1 мкг/мл) добавляли 5 мл 0.1 М HCl и 100 мкл 0.2 М раствора 5-НФА в метаноле, перемешивали и помещали в водяную баню с температурой 37°С на 16 ч. Гидролизат охлаждали, полученные продукты выделяли на картридже, заполненном ССПС, и проводили

МЕЛЕХИН и др.

Метаболит	Нитрофуран (продукт дериватизации)	<i>t</i> _R , мин	$Q_1 m/z$	$Q_3 m/z$	ПД*, В	ЭС**, эВ	EP***, B
AMO3	ФД	2.18	325.0(+)	252.0/281.0	60/60	25/19	10/10
AO3	Ф3	3.67	226.0(+)	122.0/113.0	60/60	18/19	10/10
АГД	ΗΦТ	3.43	236.8(-)	151.9/123.8	-100/-100	-17/-21	-10/-10
CEM	НΦ	3.32	196.8(-)	149.9/123.8	-100/-100	-13/-14	-10/-10
D5-AMO3	D ₅ -ФД-D ₅	2.18	330.0(+)	286.0	60	19	10
D4-AO3	D ₄ -Φ3	3.67	230.0(+)	117.0	60	19	10
13С3-АГД	13С3-НФТ	3.43	239.8(-)	151.9	-100	-17	-10
15N13C-CEM	15N13C-НФ	3.32	199.8(-)	152.9	-100	-13	-10

Таблица 1. Основные характеристики продуктов дериватизации метаболитов нитрофуранов с 5-нитро-2-фуральдегидом, определяемых методом ВЭЖХ–МС/МС в режиме мониторинга множественных реакций

* Потенциал декластеризации, ** энергия соударений, *** входной потенциал.

ВЭЖХ–МС/МС-определение. Метаболиты нитрофуранов идентифицировали по абсолютному времени удерживания для хроматографических пиков целевых веществ, регистрируемых в режиме мониторинга множественных реакций. Данные, представленные в табл. 1, подтверждают, что в результате взаимодействия метаболитов нитрофуранов с 5-НФА образуются исходные нитрофураны. Основные характеристики совпадают с соответствующими значениями для нитрофуранов, приведенными в работах [40, 41]. Выход продуктов реакции дериватизации составляет 95–100%.

Выбор условий твердофазной экстракции нитрофуранов на сверхсшитом полистироле. Как показали исследования последних лет, в том числе и проводимые в нашей научной группе, весьма перспективными сорбентами для ТФЭ органических соединений из водных растворов оказались сверхсшитые полистиролы и, в частности, ССПС Диапак П-3 [42]. Этот сорбент отличается нанопористой структурой, высокоразвитой удельной поверхностью в сочетании с аномально высоким значением площади поверхности, приходящейся на микропоры, сочетанием гидрофобности и смачиваемости водой поверхности частиц сорбентов, выраженным сродством к полярным органическим соединениям, высокой химической и механической устойчивостью и хорошей регенерируемостью. При выборе условий ТФЭ нитрофуранов – продуктов дериватизации метаболитов нитрофуранов с 5-НФА на ССПС Диапак П-3 варьировали массу сорбента, pH раствора, природу и объем элюента. Для минимизации объема элюента оказалось целесообразным использование картриджа (10 × 6 мм), заполненного 0.030 г ССПС. Установлено, что нитрофураны количественно сорбируются на ССПС в интервале pH 1-7.5, значения степеней извлечения (%) фуразолидона, фуралтадона, нитрофурантоина и

нитрофуразона равны 99 ± 3 , 98 ± 3 , 96 ± 2 и 86 ± 4 соответственно (n = 3).

Эффективность сорбционного концентрирования методом $T\Phi$ Э в значительной степени зависит от выбора элюента. В данной работе в качестве элюентов использовали ацетонитрил, метанол и этанол. Перед элюированием картридж промывали 3 мл дистиллированной воды. Элюент пропускали через картридж со скоростью 0.3 мл/мин. Установлено, что количественная десорбция нитрофуранов достигается при использовании 2 мл ацетонитрила (табл. 2).

Валилация. Достоверность методики проверяли в соответствии с Регламентом Комиссии ЕС 2002/657. Для этого оценивали специфичность, линейность, правильность (степень выделения), пределы обнаружения и определения. Степени выделения ветеринарных препаратов оценивали с использованием образцов яиц, не содержащих остаточных количеств определяемых аналитов, с добавками метаболитов нитрофуранов в количестве 0.5, 1 и 20 нг/г. Для определения внутридневной и междневной повторяемости готовили по 5 и 15 образцов для каждого уровня концентрации соответственно. Предварительно установили, что во всех образцах до внесения добавок отсутствовали хроматографические пики, мешающие определению нитрофуранов - продуктов дериватизации метаболитов нитрофуранов с 5-НФА. Как видно из табл. 3, предлагаемый метод обеспечивает не только количественное выделение аналитов из анализируемых проб (степени выделения продуктов дериватизации составляют от 95 до 106%), но и отличается хорошей воспроизводимостью ($s_r \le 0.13$).

Для оценки матричного эффекта (**МЭ**) использовали коэффициенты матричных градуировок в условиях анализа экстрактов яиц, не содержащих исследуемых соединений, с добавками метабо-



Рис. 2. Влияние времени (а), температуры (б), концентрации 5-НФА (в) и pH (г) на выход продуктов дериватизации метаболитов нитрофуранов (c = 40 нг/мл) с 5-нитро-2-фуральдегидом: 1 - фуразолидон, 2 - фуралтадон, 3 - нитро-фурантоин, 4 - нитрофуразон; $c_{5-H\Phi A} = 2$ мМ (а), (б), (г); pH ~1 (а), (б), (в); время 15 мин (б), (в), (г); 20°С (а), (в), (г).

литов нитрофуранов и коэффициенты градуировки соответствующих водных растворов с добавками метаболитов нитрофуранов. Расчет проводили по формуле:

M
$$\Theta$$
 (%) = (A/B-1)×100

где A - коэффициент в матричной градуировке, аВ - коэффициент в водной градуировке. Как видно из табл. 3, в большинстве случаев МЭ ниже10%, что может быть следствием не только использования метода внутреннего стандарта, но иэффективной очистки экстрактов.

Количественный анализ проводили с использованием матричной градуировки. Линейность

ных образцах яиц, не содержащих остаточных количеств определяемых аналитов, с добавками метаболитов нитрофуранов на уровнях концентраций 0.5, 1, 2.5, 5, 10 и 20 нг/г. Коэффициенты детерминации линейной зависимости площадей хроматографических пиков препаратов от их концентрации в анализируемом образце составили не менее 0.99. На рис. 3 представлены масс-хроматограммы экстракта яиц с добавлением 1 нг/г метаболитов нитрофуранов. Пределы обнаружения ($c_{\text{мин}}$) и определения ($c_{\text{н}}$) рассчитывали по отношению аналитического сигнала (интенсивности пика) к шуму, равному 3 и 10 соответственно.

градуировочных графиков оценивали на модель-

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 11 2021

МЕЛЕХИН и др.

Элюент	Объем элюента, мл	Фуразолидон	Фуралтадон	Нитрофурантоин	Нитрофуразон
Ацетонитрил	1	94	91	94	90
	2	99	98	98	99
Метанол	1	74	79	75	79
	2	95	96	95	98
Этанол	1	72	70	72	73
	2	90	89	92	92

Таблица 2. Степени десорбции ($R_{\text{дес}}$, %) нитрофуранов с микроколонки, заполненной 0.030 г сверхсшитого полистирола, различными элюентами

Таблица 3. Основные характеристики определения метаболитов нитрофуранов в яйцах после очистки экстрактов методом твердофазной экстракции с применением сверхсшитого полистирола Диапак П-3

Метаболит	Содержание, нг/г	Степень выделения, %	Внутридневная повторяемость (<i>s</i> _r , <i>n</i> = 5)	Междневная повторяемость (s _r , <i>n</i> = 15)	с _{мин} , нг/г	с _н , нг/г	МЭ, %
AMO3	0.5/1/20	106/101/99	0.12/0.07/0.07	0.11/0.08/0.06	0.04	0.1	8.7
AO3	0.5/1/20	104/103/98	0.09/0.11/0.07	0.10/0.09/0.08	0.02	0.5	2.5
АГД	0.5/1/20	103/104/100	0.06/0.05/0.06	0.07/0.05/0.05	0.04	0.1	4.7
CEM	0.5/1/20	95/102/97	0.13/0.10/0.08	0.12/0.13/0.08	0.2	0.5	7.3

Пределы обнаружения и определения составили 0.04–0.2 и 0.1–0.5 нг/г соответственно (табл. 3), что позволяет определять метаболиты нитрофуранов на уровне, меньшем, чем МДУ (1 нг/г).

носительное стандартное отклонение не превышает 0.15.

* * *

В табл. 4 представлены результаты оценки правильности и воспроизводимости предлагаемой методики. Установлено, что относительная погрешность анализа составляет не более 20%, от-

Таблица 4. Оценка правильности и воспроизводимости определения метаболитов нитрофуранов в яйцах методом введено-найдено (*n* = 3, *P* = 0.95)

Метаболит	Переход для количественного анализа	Введено, нг/г	Найдено, нг/г	S _r
AMO3	325.0/252.0	0	0	_
		1	1.1 ± 0.3	0.10
		20	21 ± 4	0.06
AO3	226.0/122.0	0	0	_
		1	1.1 ± 0.3	0.11
		20	20 ± 4	0.07
АГД	-236.8/-151.9	0	0	_
		1	1.0 ± 0.2	0.08
		20	20 ± 3	0.05
CEM	-196.8/149.9	0	0	_
		1	0.9 ± 0.3	0.12
		20	19 ± 4	0.07

1018



Рис. 3. Масс-хроматограммы экстракта яйца с добавлением 1 нг/г четырех метаболитов нитрофуранов после дериватизации и очистки методом твердофазной экстракции на сверхсшитом полистироле Диапак П-3.

яйцах методом ВЭЖХ–МС/МС. Полученные данные указывают на то, что продуктами дериватизации являются исходные нитрофураны, что облегчает предварительный выбор условий пробоподготовки образцов, уменьшает продолжительность анализа и снижает его стоимость. Показано, что дополнительная очистка гидролизатов, получаемых в процессе пробоподготовки яиц, методом ТФЭ с использованием коммерчески доступного сорбента ССПС Диапак П-3 поз-

воляет уменьшить матричные эффекты: для всех метаболитов они оказались ниже 10%.

Работа выполнена в рамках темы по госзаданию АААА-А21-121011990021-7.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

 Zuma N.H., Aucamp J., N'Da D.D. An update on derivatisation and repurposing of clinical nitrofuran drugs // Eur. J. Pharm. Sci. 2019. V. 140. P. 105.

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 11 2021

- 2. *Vass M., Hruska K., Fránek M.* Nitrofuran antibiotics: A review on the application, prohibition and residual analysis // Vet. Med. 2008. V. 53. № 9. P. 469.
- 3. EFSA panel on contaminants in the food chain. Scientific opinion on nitrofurans and their metabolites in food // EFSA J. 2015. V. 13. № 6. Article 4140.
- McCalla D.R. Mutagenicity of nitrofuran derivatives: Review // Environ. Mutagen. 1983. V. 5. P. 5745.
- Commission Regulation (EC) 1995/1442/EC (1995) // Off. J. Eur. Commun. 1995. V. 38. № 143. P. 26.
- Единые санитарно—эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю). 2010. С. 391.
- Закревский В.В., Лелеко С.Н. Скрининг нитрофурановых соединений в импортном мясном сырье // Гигиена и санитария. 2014. Т. 5. С. 121.
- 8. Закревский В.В., Лелеко С.Н. Загрязненность импортного мясного сырья нитрофуранами // Вестник СПбГУ. Медицина. 2014. № 2. С. 66.
- Radovnikovic A., Conroy E.-R., Gibney M., O'Mahony J., Danaher M. Residue analyses and exposure assessment of the Irish population to nitrofuran metabolites from different food commodities in 2009–2010 // Food Addit. Contam. A. 2013. V. 30. P. 1858.
- Zhao H., Guo W., Quan W., Jiang J., Qu B. Occurrence and levels of nitrofuran metabolites in sea cucumber from Dalian, China // Food Addit. Contam. A. 2016. V. 33. P. 1672.
- Conneely A., Nugent A., O'Keeffe M., Mulder P.P.J., van Rhijn J.A., Kovacsics L., Fodor A., McCracken R.J., Kennedy D.G. Isolation of bound residues of nitrofuran drugs from tissue by solid-phase extraction with determination by liquid chromatography with UV and tandem mass spectrometric detection // Anal. Chim. Acta. 2003. V. 483. P. 91.
- Xia X., Li X., Zhang S., Ding S., Jiang H., Li J., Shen J. Simultaneous determination of 5-nitroimidazoles and nitrofurans in pork by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2008. V. 1208. P. 101.
- 13. Kaufmann A., Butcher P., Maden K., Walker S., Widmer M. Determination of nitrofuran and chloramphenicol residues by high resolution mass spectrometry versus tandem quadrupole mass spectrometry // Anal. Chim. Acta. 2015. V. 862. P. 41.
- 14. Куликовский А.В., Горлов И.Ф., Сложенкина М.И., Вострикова Н.Л., Иванкин А.Н., Кузнецова О.А. Определение нитрофуранов в мышечной ткани методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 75. № 8. С. 703.
- 15. *Finzi J.K., Donato J.L., Sucupira M., De Nucci G.* Determination of nitrofuran metabolites in poultry muscle and eggs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry // J. Chromatogr. B. 2005. V. 824. P. 30.
- Alkan F., Kotan A., Özdemir N. Development and validation of confirmatory method for analysis of nitrofuran metabolites in milk, honey, poultry meat and fish by liquid chromatography-mass spectrometry // Mac. Vet. Rev. 2016. V. 39. P. 15.

- Zhang Z., Wu Y., Li X., Wang Y., Li H., Fu Q., Shan Y., Liu T., Xia X. Multi-class method for the determination of nitroimidazoles, nitrofurans, and chloramphenicol in chicken muscle and egg by dispersive-solid phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2017. V. 217. P. 182.
- Bock C., Stachel C., Gowik P. Validation of a confirmatory method for the determination of residues of four nitrofurans in egg by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with the software InterVal // Anal. Chim. Acta. 2007. V. 586. P. 348.
- 19. *Szilagyi S., De La Calle B.* Development and validation of an analytical method for the determination of semicarbazide in fresh egg and in egg powder based on the use of liquid chromatography tandem mass spectrometry // Anal. Chim. Acta. 2006. V. 572. P. 113.
- Śniegocki T., Giergiel M., Sell B., Posyniak A. New method of analysis of nitrofurans and nitrofuran metabolites in different biological matrices using UHPLC-MS/MS // J. Vet. Res. 2018. V. 62. P. 161.
- 21. *Chu P.-S., Lopez M.I.* Determination of nitrofuran residues in milk of dairy cows using liquid chromatography-tandem mass spectrometry // J. Agric. Food Chem. 2007. V. 55. P. 2129.
- Rodziewicz L. Determination of nitrofuran metabolites in milk by liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry // J. Chromatogr. B. 2008. V. 864 P. 156.
- Valera-Tarifa N.M., Plaza-Bolaňos P., Romero-González R., Martínez-Vidal J.L., Garrido-Frenich A. Determination of nitrofuran metabolites in seafood by ultra high performance liquid chromatography coupled to triple quadrupole tandem mass spectrometry // J. Food Compos. Anal. 2013. V. 30. P. 86.
- Zhang Y., Qiao H., Chen C., Wang Z., Xia X. Determination of nitrofurans metabolites residues in aquatic products by ultra-performance liquid chromatogra-phy-tandem mass spectrometry // Food Chem. 2016. V. 192. P. 612.
- 25. Øye B.E., Couillard F.D., Valdersnes S. Complete validation according to current international criteria of a confirmatory quantitative method for the determination of nitrofuran metabolites in seafood by liquid chromatography isotope dilution tandem mass spectrometry // Food Chem. 2019. V. 300. Article 125175. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125175
- 26. Veach B.T. Determination of chloramphenicol and nitrofuran metabolites in cobia, croaker, and shrimp using microwave-assisted derivatization, automated SPE, and LC-MS/MS-Results from a U.S. Food and Drug Administration level three inter-laboratory study // J. AOAC Int. 2020. V. 103. P. 1043.
- 27. Verdon E., Couedor P., Sanders P. Multi-residue monitoring for the simultaneous determination of five nitrofurans (furazolidone, furaltadone, nitrofurazone, nitrofurantoine, nifursol) in poultry muscle tissue through the detection of their five major metabolites (AOZ, AMOZ, SEM, AHD, DNSAH) by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry-in-house validation in line with Commission Decision 657/2002/EC // Anal. Chim. Acta. 2007. V. 586. P. 336.

- Lázaro de la Torre C.A., Blanco J.E., Silva J.T., Flosi– Paschoalin V.M., Conte-Júnior C.A. Chromatographic detection of nitrofurans in foods of animal origin // Arq. Inst. Biol. 2015. V. 82. P. 1.
- 29. ГОСТ 32014–2012. Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания метаболитов нитрофуранов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (с изменением № 1, с поправками). М.: Стандартинформ, 2013.
- Chumanee S., Sutthivaiyakit S., Sutthivaiyakit P. New reagent for trace determination of protein—bound metabolites of nitrofurans in shrimp using liquid chromatography with diode array detector // J. Agric. Food Chem. 2009. V. 57. P. 1752.
- Zhang S., Guo Y., Yan Z., Sun X., Zhang X. A selective biomarker for confirming nitrofurazone residues in crab and shrimp using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // Anal. Bioanal. Chem. 2015. V. 407. P. 8971.
- 32. *Zhang S., Li P.P., Yan Z., Long J., Zhang X.* Identification and quantification of nitrofurazone metabolites by ultraperformance liquid chromatography–quadrupole time-of-flight high-resolution mass spectrometry with precolumn derivatization // Anal. Bioanal. Chem. 2017. V. 409. P. 2255.
- 33. Sheng L.-Q., Chen M.-M., Chen S.-S., Du N.-N., Liu Z.-D., Song C.-F., Qiao R. High-performance liquid chromatography with fluorescence detection for the determination of nitrofuran metabolites in pork muscle // Food Addit. Contam. A. 2013. V. 30. № 12. P. 2114.
- 34. Du N.-N., Chen M.-M. Determination of nitrofuran metabolites in shrimp by high performance liquid chromatography with fluorescence detection and liquid chromatography-tandem mass spectrometry using a new derivatization reagent // J. Chromatogr. A. 2014. V. 1327. P. 90.
- 35. Li G., Tang C., Wang Y., Yang J., Wu H., Chen G., Kong X., Kong W., Liu S., You J. A rapid and sensitive method for semicarbazide screening in foodstuffs by HPLC with fluorescence detection // Food Anal. Methods. 2014. V. 8. № 7. P. 1804.

- 36. *Wang Y., Chan W.* Automated in-injector derivatization combined with high performance liquid chromatography-fluorescence detection for the determination of semicarbazide in fish and bread samples // J. Agric. Food Chem. 2016. V. 64. № 13. P. 2802.
- 37. Yu Y., Li N., Jin Q., Ji Z., Sun Z., Li G., Zhang S., You J. Novel fluorescence labeling reagent 4-(carbazole-9yl)-benzyl chloroformate and its application in the determination of nitrofuran metabolites compounds in foodstuffs by high performance liquid chromatography with fluorescence detection // Microchem. J. 2019. V. 145. P. 9.
- Luo X., Sun Z., Wang X., Li G., You J. Determination of nitrofuran metabolites in marine products by high performance liquid chromatography-fluorescence detection with microwave-assisted derivatization // New J. Chem. 2019. V. 43. P. 2649.
- 39. Luo X., Yu Y., Kong X., Wang X., Ji Z., Sun Z., You J. Rapid microwave assisted derivatization of nitrofuran metabolites for analysis in shrimp by high performance liquid chromatography–fluorescence detector // Microchem. J. 2019. V. 150. P. 139.
- 40. *Pearson R.A., Evans C., Bendall J.G.* Nitrofurazone quantification in milk at the European Union minimum required performance limit of 1 ng g⁻¹: circumventing the semicarbazide problem // Food Addit. Contam. A. 2016. V. 33. P. 1324.
- 41. Ardsoongnearn C., Boonbanlu O., Kittijaruwattana S., Suntornsuk L. Liquid chromatography and ion trap mass spectrometry for simultaneous and multiclass analysis of antimicrobial residues in feed water // J. Chromatogr. B. 2014. V. 945–946. P. 31.
- 42. Дмитриенко С.Г., Тихомирова Т.И., Апяри В.В., Толмачева В.В., Кочук Е.В., Золотов Ю.А. Применение сверхсшитых полистиролов для концентрирования и разделения органических соединений и ионов элементов // Журн. аналит. химии. 2018. Т. 73. № 11. С. 830. (Dmitrienko S.G., Tikhomirova T.I., Apyari V.V., Tolmacheva V.V., Kochuk E.V., Zolotov Yu.A. Application of hypercrosslinked polystyrenes to the preconcentration and separation of organic compounds and ions of elements: A review // J. Anal. Chem. 2018. V. 73. P. 1053.)

УДК 544.543

ХИРАЛЬНАЯ НЕПОДВИЖНАЯ ФАЗА НА ОСНОВЕ КОНГЛОМЕРАТОВ ГУАНИНА, ПОЛУЧЕННЫХ В УСЛОВИЯХ СОЗРЕВАНИЯ ВИЕДМЫ

© 2021 г. Н. И. Сайранова^{*a*}, Ю. Ю. Гайнуллина^{*a*}, *

^аБашкирский государственный университет, химический факультет ул. Заки Валиди, 32, Уфа, 450076 Россия *e-mail: umashkova@mail.ru Поступила в редакцию 24.03.2021 г. После доработки 06.04.2021 г. Принята к публикации 12.04.2021 г.

Предложена новая хиральная неподвижная фаза на основе гуанина. В качестве основного объекта исследования выбрали инертный носитель Inerton NAW–HDMS, модифицированный 10% гуанина в условиях созревания Виедмы. Модифицированный адсорбент, полученный путем нанесения гуанина в режиме созревания Виедмы, способен к хиральному распознаванию. Анализ термодинамических функций адсорбции показал, что различия в мольных изменениях внутренней энергии и энтропии адсорбции энантиомеров галогеналканов обусловлены преимущественной адсорбцией одного из энантиомеров внутри полости супрамолекулярной структуры гуанина, а другого – на ее поверхности. Установлено, что предлагаемая неподвижная фаза способна проявлять энантиоселективность по отношению к галогеналканам. Методом газовой хроматографии разделены рацематы 2-бромгептана, 1,2-дихлорпропана, 1,2-дибромпропана и 2-хлорбутана. Наилучшее разделение достигнуто в случае рацемата 2-хлорпентана: фактор разделения α составил 2.43.

Ключевые слова: гуанин, хиральные кристаллы, энантиомеры, созревание Виедмы, полость, фактор разделения α, мольные изменения внутренней энергии и энтропии адсорбции. **DOI:** 10.31857/S004445022111013X

Многие лекарственные препараты, полученные синтетически, являются рацематами. Еще недавно считалось, что если один изомер физиологически активен, то второй энантиомер — неактивный и соответственно не будет оказывать влияния на организм. Однако зафиксированы случаи, когда один из энантиомеров может оказывать вредное воздействие [1].

При химическом синтезе возникает рацемическая смесь 50% левовращающего и 50% правовращающего изомеров. В живые системы включены оптические изомеры только одного типа. Хиральность – одна из уникальных особенностей всех живых существ. Существует несколько гипотез объяснения хиральности в природе, одной из которых является нарушение симметрии – созревание Виедмы [2, 3]. Созревание Виедмы – это процесс образования энантиоморфных кристаллов из растворов ахирального вещества. Ранее Кондепуди [4-7] при изучении хлората натрия обнаружил, что без перемешивания количество образовавшихся лево- и правовращающих энантиомеров равно, однако при перемешивании раствора образуется только один тип энантиоморфных кристаллов. Избыток одной энантиоморфной

формы возникает за счет вторичной нуклеации. Кристалл, который получается первоначально, разбивается стеклянными шариками на более мелкие. В результате количество кристалликов одной из энантиоморфных форм становится больше, чем другой. Ранее установлено [8–16], что хиральные кристаллы, полученные из определенных видов оптически неактивных органических молекул, при облучении ультрафиолетовым излучением дают оптически активные соединения. Кроме образования энантиоморфных кристаллов из растворов ахирального вещества, в настоящее время для получения хиральных кристаллов применяют автокатализ и воздействие ультразвука [17–21].

Созревание Виедмы применимо и к органическим молекулам [22]. Ранее установлено [23], что хиральные органические трехмерные кристаллы образуются из ахиральных молекул посредством самосборки. При этом 2D супрамолекулярные структуры характеризуются аналогичным механизмом самосборки. К таким молекулам относится гуанин (схема 1) [24–26].



Схема 1. Супрамолекулярная структура гуанина.

Созревание Виедмы можно применять для получения хиральных 2D поверхностей, которые в дальнейшем можно использовать в качестве новых хиральных неподвижных фаз (адсорбентов) для газовой и жидкостной хроматографии. Модифицированные циклодекстрины [27-30] уже известны как хиральные адсорбенты, однако они отвечают не всем требованиям энантиоселективности. В последнее время успешно развивается направление по применению неподвижных фаз на основе наноматериалов [31, 32], которые, однако, в отличие от циклодекстринов, показали невысокую энантиоселективность. Достаточно хорошо изучены хиральные 2D поверхности цитозина [33–35], полученные по автокаталитическому механизму. Однако информации по получению хиральных 2D поверхностей в условиях созревания Виедмы недостаточно.

Данная работа посвящена получению хиральных кристаллов гуанина в условиях созревания Виедмы. Показана способность полученной неподвижной фазы к хиральному распознаванию галогеналканов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве модификатора неподвижной фазы выбрали гуанин (51030, Sigma—Aldrich, USA, EC number: 200-799-8), очищенный дополнительной перекристаллизацией. Для разделения энантиомеров и исследования термодинамических характеристик адсорбции алканов на поверхности гуанина в качестве адсорбента—носителя применяли инертный носитель Inerton NAW-HDMS (Chemapol, Чехия).

Кристаллы гуанина готовили по методике [36]. Использовали деионизированную воду, полученную с помощью деионизатора ДВ-10UV (Цвет-Хром, Россия). Модифицирование сорбента гуанином осуществляли по скорректированной методике созревания Виедмы [2].

1. Первичная нуклеация. Гуанин, подготовленный по методике [36].

2. Вторичная нуклеация. В размешиваемый со скоростью 500 об/мин насыщенный при комнатной температуре водно-спиртовой раствор 0.4 г гуанина вносили отобранный микрошприцом микрокристалл гуанина рядом с мешалкой. Раствор оставляли при постоянном размешивании при комнатной температуре на двое суток.

3. Адсорбция хиральных конгломератов. В полученную суспензию добавляли Inerton NAW–HDMS в количестве 4 г. Далее суспензию выдерживали при перемешивании со скоростью 200 об/мин в течение 3 ч.

4. Рост хиральных доменов на поверхности. В суспензию со скоростью 0.3 мл/мин добавляли 0.4 г гуанина в водно-спиртовой смеси с постепенным охлаждением раствора до +7°С. По окончании внесения всей порции гуанина суспензию выдерживали в течение часа. Затем сорбент отделяли от жидкой фазы путем фильтрования.

Для разделения энантиомеров и получения данных о термодинамических характеристиках адсорбции рацематов галогеналканов на изучаемом образце применяли метод обращенной газо-



Рис. 1. Распределение частиц гаунина по размерам перед их нанесением на поверхность инертного носителя. Ось ординат – содержание частиц в растворе, %. Ось абсцисс – диаметр частиц, мкм.

вой хроматографии в режиме бесконечного разбавления. Использовали хроматограф Цвет 500М (Цвет, Дзержинск, Россия) с пламенно-ионизационным детектором. Длина колонки 1 м, внутренний диаметр 3 мм, расход газа-носителя азота 10 мл/мин. Температура испарителя и детектора 150°С. В качестве аналитов использовали рацематы 2-бромгептана, 1,2-дихлорпропана, 1,2-дибромпропана, 2-хлорбутана, 2-бутанола и 2-пентанола (CAS № 1974-04-5, 78-87-5, 78-75-1, 78-86-4, 78-92-2 и 6032-29-7 соответственно, Sigma—Aldrich, США, чистота >98%).

Фактор разделения энантиомеров рассчитывали по формуле:

$$\alpha = \frac{t_{\mathrm{R}(2)}}{t_{\mathrm{R}(1)}},\tag{1}$$

где $t_{R(2)}$ — время удерживания второго пика, $t_{R(1)}$ — время удерживания первого пика.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Перед газохроматографическим анализом определяли размер частиц гуанина, наносимых на поверхность инертного носителя. Для этого использовали лазерный анализатор Shimadzu SALT 7101. Полученные данные приведены на рис. 1. Обнаружено, что частицы гуанина имеют размеры от 1 до 40 мкм. Средний размер частиц составил 8 мкм.

На рис. 2–6 приведены хроматограммы разделения рацематов 2-бромгептана, 2-хлорпентана, 2-хлорбутана, 1,2-дихлорпропана, 1,2-дибромпропана соответственно. Как видно, наилучшее разделение наблюдается для рацемата 2-хлорпентана, фактор разделения α равен 2.43 при 60°С. Рацемат 2-хлорбутана характеризуется самым низким фактором разделения $\alpha = 1.81$ при 70°С. Анализ параметров разделения показал, что с увеличением температуры времена удерживания закономерно уменьшаются. Заметно, что фактор разделения α для рацемата 2-хлорбутана имеет достаточно низкие значения по сравнению с дру-

гими аналитами (табл. 1). Как видно из табл. 1, факторы разделения 2-хлорбутана с увеличением температуры меняются незначительно по сравнению с другими рацематами. Обнаружено, что факторы разделения α практически для всех аналитов с увеличением температуры снижаются равномерно. Однако в случае 2-бромгептана происходит более резкое снижение фактора разделения. При 100°С факторы разделения α имеют самые низкие значения для всех изучаемых аналитов.

При высоких температурах неподвижная фаза теряет способность разделять энантиомеры. Следует отметить, что такое явление наблюдалось и ранее [37, 38]. Для хиральных неподвижных фаз на основе меламина, урацила и циануровой кислоты максимальная рабочая температура, при которой колонка оставалась стабильной во времени, не превышала 80-90°С. В случае гуанина обнаружено, что в диапазоне 60-90°C факторы разделения α имеют достаточно высокие значения и только при 100°C – значительно более низкие, а при более высоких температурах ни один из галогеналканов не удалось разделить на энантиомеры. Таким образом, хиральная неподвижная фаза на основе гуанина достаточно термостабильна для того, чтобы оценить ее энантиоселек-



Рис. 2. Газохроматографическое разделение рацемата 2-бромгептана на инертном носителе, модифицированном гуанином: $T = 60^{\circ}$ С, $\alpha = 2.33$, $\omega = 10$ мл/мин.



Рис. 3. Газохроматографическое разделение рацемата 1,2-дихлопропана на инертном носителе, модифицированном гуанином: $T = 70^{\circ}$ С, $\alpha = 2.0, \omega = 10$ мл/мин.



Рис. 5. Газохроматографическое разделение рацемата 2-хлорпентана на инертном носителе, модифицированном гуанином: $T = 60^{\circ}$ С, $\alpha = 2.43$, $\omega = 10$ мл/мин.

тивность по отношению к галогеналканам (температура кипения 100°С и выше).

Попытка разделения рацематов спиртов на данном адсорбенте оказалась неудачной: ни один из рацематов не делится на энантиомеры. Ранее установлено [37], что предложенные неподвижные фазы имеют высокую энантиоселективность по отношению к соединениям, содержащим гидроксильную группу при асимметрическом атоме углерода. В случае гуанина и аденина показано [39], что такие фазы проявляют энантиоселективность только по отношению к молекулам галогеналканов. Вероятно, это связано с тем, что данные вещества имеют одинаковый механизм образования супрамолекулярных структур, а именно ДНК-квадруплексов. Такие структуры проявляют другие свойства по сравнению с веществами, способными к образованию 2D упорядоченных структур. Возможно, отсутствие проявления энантиоселективности по отношению к спиртам связано со свойствами полости, образующейся в результате самосборки гуанина. В связи с тем, что



Рис. 4. Газохроматографическое разделение рацемата 1,2-дибромпропана на инертном носителе, модифицированном гуанином: $T = 70^{\circ}$ C, $\alpha = 2.24$, $\omega = 10 \text{ мл/мин}$.



Рис. 6. Газохроматографическое разделение рацемата 2-хлорбутана на инертном носителе, модифицированном гуанином: $T = 70^{\circ}$ С, $\alpha = 1.81$, $\omega = 10$ мл/мин.

молекула гуанина имеет полярные центры (одна кетогруппа и пять атомов азота), образующаяся полость обладает более низкой способностью к дисперсионным взаимодействиям, и образование большого числа водородных связей между спиртами и супраструктурой гуанина не обеспечивает полной адсорбции спиртов внутри полости. Поэтому адсорбция спиртов происходит на поверхности супраструктуры, в результате чего разделения не происходит. В случае галогеналканов разделение можно объяснить тем, что один из энантиомеров адсорбируется в полости, а другой — на ее поверхности. Для подтверждения данного факта рассчитали мольные изменения внутренней энергии и энтропии адсорбции энантиомеров для двух пиков. Как видно из табл. 2, значения $-\Delta F$, кДж/моль и $-\Delta S$, Дж/(моль K) галогеналканов на неподвижной фазе на основе гуанина для всех аналитов для двух пиков отличаются почти в 2-3 раза. Такие различия в мольных изменениях внутренней энергии и энтропии адсорбции энантиомеров галогеналканов обуслов-

<i>T</i> , °C	<i>t_R</i> (первый пик), с	<i>t_{R(второй пик),}</i> с	α					
2-Хлорбутан								
70	227	412	1.81					
80	215	374	1.73					
90	207	321	1.55					
	1,2-Дихло	орпропан						
70	221	422	1.90					
80	216	409	1.89					
90	209	345	1.65					
	1,2-Дибро	омпропан						
70	214	481	2.24					
80	208	396	1.90					
90	201	332	1.65					
	2-Бром	гептан						
60	223	520	2.33					
70	236	407	1.72					
80	231	346	1.49					
90	227	312	1.37					
100	216	268	1.24					
	2-Хлор	пентан						
60	228	556	2.43					
70	223	480	2.15					
80	204	374	1.83					

Таблица 1. Параметры газохроматографического разделения рацематов на изучаемой неподвижной фазе

* Относительное стандартное отклонение для $t_{\rm R}$, α и R не превышало 0.08.

Таблица 2. Значения $-\Delta F$ и $-\Delta S$ галогеналканов на неподвижной фазе на основе гуанина

Аналит	$-\Delta F$, к \downarrow	Іж/моль	—Δ <i>S</i> , Дж/ (моль К)		
	1 пик	2 пик	1 пик	2 пик	
1,2-Дихлорпропан	4.01	15.14	16.33	31.26	
1,2-Дибромпропан	4.28	17.71	11.37	43.07	
2-Бромгептан	6.29	22.71	13.77	45.50	
2-Хлорпентан	5.29	17.13	12.49	42.49	
2-Хлорбутан	4.67	15.56	10.12	33.70	
R	0.9789	0.9876	0.9845	0.9756	

лены преимущественной адсорбцией одного из энантиомеров внутри полости супрамолекулярной структуры гуанина, а другого — на ее поверхности. Полученные хроматограммы представлены на рис. 2–6. * * *

Таким образом, новая хиральная неподвижная фаза на основе гуанина показала высокую способность к разделению энантиомеров галогеналканов. Даже на метровой насадочной колонке достигнуто достаточно хорошее разделение. Высокие факторы разделения дают надежду на применение предложенной фазы для препаративного разделения энантиомеров, а высокая стабильность фазы (гуанин плавится при температуре 360°С) и легкость нанесения позволят решить многие задачи разделения энантиомеров.

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 19-73-10079).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Blaschke G., Kraft H.P., Markgraf H. Optical resolution of thalidomide and other glutarimide derivatives // Chem. Ber. 1980. V. 113. № 6. P. 2318.
- Viedma C. Chiral symmetry breaking during crystallization: Complete chiral purity induced by nonlinear autocatalysis and recycling // Phys. Rev. Lett. 2005. V. 94. № 6. P. 065504.
- 3. Viedma C., McBride J.M., Kahr B., Cintas P. Enantiomer-specific oriented attachment: formation of macroscopic homochiral crystal aggregates from a racemic system // Angew. Chem. Int. Ed. 2013. V. 52. № 40. P. 10545.
- 4. *Kondepudi D.K., Digits J., Bullock K.* Studies in chiral symmetry breaking crystallization I: The effects of stirring and evaporation rates // Chirality. 1995. V. 7. № 2. P. 62.
- 5. *Kondepudi D.K., Asakura K.* Chiral autocatalysis, spontaneous symmetry breaking, and stochastic behavior // Acc. Chem. Res. 2001. V. 34. № 12. P. 946.
- 6. *Kondepudi D.K.* Spontaneous generation and propagation of chiral asymmetry // Int. J. Quantum Chem. 2004. V. 98. № 2. P. 222.
- Kondepudi D.K., Nelson G.W. Chiral symmetry breaking in nonequilibrium chemical systems: Time scales for chiral selection // Phys. Lett. A. 1984. V. 106. № 4. P. 203.
- Ramamurthy V. Organic Photochemistry in Organized Media // Tetrahedron. 1986. V. 42. № 21. P. 5753.
- 9. Scheffer J.R., Garcia-Garibay M.A., Nalamasu O. The influence of the molecular crystalline environment on organic photorearrangements // Org. Photochem., 1987. V. 8. P. 249.
- Ramamurthy V., Venkatesan K. Photochemical reactions of organic crystals // Chem. Rev. 1987. V. 87. № 2. P. 433.
- 11. Sakamoto M. Absolute asymmetric synthesis from achiral molecules in the chiral crystalline environment // Chem. Eur. 1997. V. 3. № 5. P. 684.
- Feringa B.L., Van Delden R.A. Absolute asymmetric synthesis: The origin, control, and amplification of chirality // Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1999. V. 38. № 23. P. 3418.

- 13. *Toda F.* Organic Solid-State Reactions. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2002. P. 189.
- 14. *Inoue Y., Ramamurthy V.* Chiral Photochemistry. N.Y.: Marcel Dekker, 2004. P. 485.
- 15. *Hazen R.M., Filley T.R., Goodfriend G.A.* Selective adsorption of L- and D-amino acids on calcite: Implications for biochemical homochirality // Proc. Natl. Acad. Sci. 2001. V. 98. № 10. P. 5487.
- Hazen R.M., Sholl D.S. Chiral selection on inorganic crystalline surfaces // Nat. Mater. 2003. V. 2. № 6. P. 367.
- Hem S.L. The effect of ultrasonic vibrations on crystallization processes // Ultrasonics. 1967. V. 5. № 4. P. 202.
- Dennehy R.D. Particle engineering using power ultrasound // Org. Process Res. Dev. 2003. V. 7. № 6. P. 1002.
- 19. Ruecroft G., Hipkiss D., Cains P.W., Ly T., Maxted N. Sonocrystallization: The use of ultrasound for improved industrial crystallization // Org. Process Res. Dev. 2005. V. 9. № 6. P. 923.
- Castro L. de M.D., Priego-Capote F. Ultrasound-assisted crystallization (sonocrystallization) // Ultrason. Sonochem. 2007. V. 14. № 6. P. 717.
- Avalos M., Babiano R., Cintas P., Jimenez J.L., Palacios L.C., Barron L.D. Absolute asymmetric synthesis under physical fields: facts and fictions // Chem. Rev. 1998. V. 98. № 7. P. 2391.
- 22. Kawasaki T., Suzuki K., Hakoda Y., Soai K. Generation of absolute controlled crystal chirality by the removal of crystal water from achiral crystal of nucleobase cytosine // Angew. Chem. Int. Ed. 2008. 47. № 6. P. 496.
- Koshima H. Generation of chirality in two-component molecular crystals from achiral molecules // J. Mol. Struct. 2000. V. 552. № 1. P. 111.
- 24. *Steiner T.* The hydrogen bond in the solid state // Angew. Chem. Int. Ed. 2002. V. 41. № 1. P. 48.
- 25. Ciesielski A., Lena S., Masiero S., Spada G.P., Samor P. Dynamers at the solid-liquid interface: Controlling the reversible assembly/reassembly process between two highly ordered supramolecular guanine motifs // Angew. Chem. Int. Ed. 2010. V. 49. № 11. P. 1963.
- 26. Sun H., Xiang J., Zhou Q., Yang Q., Xu G., Tang Y. Temperature-sensitive supramolecules self-assembled by G-quadruplex DNA // Int. J. Biol. Macromol. 2010. V. 46. № 1. P. 123.
- Xiao Y., Ng S.-C., Tan T.T.Y., Wang Y. Recent development of cyclodextrin chiral stationary phases and their applications in chromatography // J. Chromatogr. A. 2012. V. 1269. P. 52.
- Zhang X., Zhang C., Sun G., Xu X., Tan Y., Wu H., Cao R., Liu J., Wu J. Cyclodextrins and their derivatives in the resolution of chiral natural products: A review // Instrum. Sci. Technol. 2012. V. 40. P. 194.
- Zhou J., Tang J., Tang W. Engineering cyclodextrin clicked chiral stationary phase for high-efficiency enantiomer separation // Trends Anal. Chem. 2015. V. 65. P. 22.
- 30. *Tang W., Ng S.-C., Sun D.* Modified Cyclodextrins for Chiral Separation. Berlin: Springer-Verlag, 2013.

- Peluso P., Mamane V., Cossu S. Homochiral metal-organic frameworks and their application in chromatography enantioseparations // J. Chromatogr. A. 2014. V. 1363. P. 11.
- 32. Li G., Yu W., Ni J., Liu T., Liu Y., Sheng E., Cui Y. Selfassembly of a homochiral nanoscale metallacycle from a metallosalen complex for enantioselective separation // Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 2008. V. 47. № 7. P. 1245.
- 33. *Soai K., Kawasaki T.* Discovery of asymmetric autocatalysis with amplification of chirality and its implication in chiral homogeneity of biomolecules // Chirality. 2006. V. 18. № 7. P. 469.
- Bolm C., Bienewald F., Seger A. Asymmetrische autocatalyse mit chiralitäts verstärkung // Angew. Chem. 1996. V. 108. № 15. P. 1767.
- Xiouras C., Fytopoulos A., Jordens J., Boudouvis A., Van Gerven T., Stefanidis G.D. Applications of ultrasound to chiral crystallization, resolution and deracemization // Ultrason. Sonochem. 2018. V. 43. P. 184.
- 36. Gur D., Pierantoni M., Dov N.E., Feldman Y., Weiner S., Addadi L. Guanine crystallization in aqueous solutions enables control over crystal size and polymorphism // Cryst. Growth Des. 2016. V. 16. № 9. P. 4975.
- 37. *Гуськов В.Ю., Гайнуллина Ю.Ю., Утеева Ж.Д., Мусабиров Д.Э.* Применение хиральной неподвижной фазы на основе 3,4,9,10-перилентетракарбоновой кислоты для разделения энантиомеров в условиях газовой и жидкостной хроматографии // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 6. С. 537. (*Gus'kov V.Yu., Gainullina Yu.Yu., Uteeva J.D., Musabirov D.E.* The use of a chiral stationary phase based on 3,4,9,10-perylene tetracarboxylic acid dianhydride for the separation of enantiomers in gas and liquid chromatography // J. Anal. Chem. 2020. V. 75. № 6. Р. 537.)
- 38. Нафикова А.Р., Аллаярова Д.А., Гуськов В.Ю. Разделение энантиомеров 2-бромбутана, 2-хлорбутана, 2-хлорпентана, а также бутанола-2 на неподвижной фазе на основе супрамолекулярной структуры урацила // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 6. С. 415. (*Nafikova A.R., Allayarova D.A., Gus'kov V.Yu*. Separation of 2-bromobutane, 2-chlorobutane, 2-chloropentane and 2-butanol enantiomers using a stationary phase based on a supramolecular uracil structure // J. Anal. Chem. 2019. V. 74. № 6. Р. 565.)
- 39. Гуськов В.Ю., Гуськова М.В., Зарипова А.И., Рамазанова Г.А. Адсорбционные и хроматографические характеристики графитированной термической сажи, модифицированной аденином, по отношению к ряду органических соединений // Журн. физ. химии. 2020. Т. 94. № 6. С. 903. (Gus'kov V.Yu., Gus'kova M.V., Zaripova A.I., Ramazanova G.A. Adsorption and chromatographic characteristics of graphitized thermal soot modified with adenine under the conditions of maturation of Viedma // J. Phys. Chem. 2020. V. 94. P. 1208.)

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 11 2021

— ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ —

УДК 543.63:547.591"13(282.256.341)

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНДИКАТОРНЫХ КОНГЕНЕРОВ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ В ВОДЕ НА УЛЬТРАСЛЕДОВОМ УРОВНЕ КОНЦЕНТРАЦИЙ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ— ТАНДЕМНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

© 2021 г. О. В. Кустова^{*a*, *}, А. С. Степанов^{*b*}, А. Г. Горшков^{*a*}

^аЛимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук ул. Улан-Баторская, 3, Иркутск, 664033 Россия ^bУральский научно-исследовательский институт метрологии — филиал Всероссийского научно-исследовательского института метрологии им. Д.И. Менделеева ул. Красноармейская, 4, Екатеринбург, 620075 Россия *e-mail: kustova_ov@lin.irk.ru Поступила в редакцию 31.03.2021 г. После доработки 07.04.2021 г. Принята к публикации 08.04.2021 г.

Валидирована методика определения индикаторных конгенеров (**ИК**) полихлорированных бифенилов (**ПХБ**) (№№ по ИЮПАК: 28, 52, 101, 118, 138, 153 и 180) в воде на ультраследовом уровне концентраций в диапазоне от 0.02 до 0.90 нг/л. Методика включает отбор проб объемом 1 л, экстракцию ПХБ в *н*-гексан, концентрирование экстрактов ($k_{конц} = 10^4$) и прямой анализ концентратов методом газовой хроматографии–тандемной масс-спектрометрии. Хроматография концентратов на колонках с карборановой фазой (HT-8, 30 м), детектирование аналитических пиков в режиме мониторинга заданных реакций и применение ИК, меченных углеродом ¹³С, в качестве суррогатных внутренних стандартов обеспечили высокую надежность идентификации пиков и точность количественного определения с суммарной погрешностью (± δ , *P* = 0.95), равной 35%. Методика апробирована в рамках мониторинга ПХБ в водной экосистеме озера Байкал, определены концентрации ИК в верхнем водном слое пелагиали и в притоках озера.

Ключевые слова: индикаторные конгенеры полихлорированных бифенилов, определение на ультраследовом уровне концентраций, ГХ–МС/МС, вода озера Байкал. **DOI:** 10.31857/S0044450221110074

Полихлорированные бифенилы (ПХБ) обладают рядом уникальных физических и химических свойств, которые определили их широкое применение в прошлом в качестве лиэлектриков в трансформаторах, конденсаторах, гидравлических жидкостях, теплоносителях, хладагентах и смазочных маслах, как компонентов пластификаторов красок, лаков и клеев. Суммарный объем мирового производства ПХБ составил 1.5 млн тонн, из которых приблизительно 10% остались в окружающей среде [1]. Вследствие исключительной химической и биологической устойчивости, а также глобального распространения ПХБ обнаружены в воздухе, воде, почве, и биоте. Установлено, что ПХБ оказывают токсическое воздействие на живые организмы в крайне малых дозах и способны накапливаться в биологических объектах, поэтому Стокгольмской конвенцией (в РФ конвенция ратифицирована 2011 г. [2]) их производство и использование было запрещено;

эти вещества включены в число стойких органических загрязняющих веществ и конвенцией ОСПАР в список приоритетных загрязнителей, требующих первоочередных мер по их контролю [3, 4].

Основная часть исследований токсичности ПХБ выполнена с копланарными диоксиноподобными конгенерами, которые Международным агентством по изучению рака отнесены к группе веществ, оказывающих канцерогенное действие на человека [5]. В работах последних лет представлены убедительные доказательства ответственности и непланарных конгенеров за экологические риски для живой природы, в частности их нейротоксичности [6, 7].

На современном этапе к источникам ПХБ отнесены демонтаж и утилизация оборудования, содержащего эти вещества в качестве конструктивных материалов, а также различные химические и термические процессы, в результате которых ПХБ образуются как побочные продукты. После прекращения промышленного производства ПХБ отмечено снижение их содержания в рыбе и донных отложениях [8–12]. По мнению авторов работ [13, 14], количество ПХБ в окружающей среде в настоящее время не уменьшается и даже увеличивается в некоторых районах мира. В частности, в 2014 и 2015 гг. в водах озера Байкал, которое содержит до 20% мировых запасов поверхностных пресных вод (23.6 тыс. км³), отмечено повышение уровня концентраций ПХБ [15– 17] в 4.5 раза относительно максимальных и в 20 раз относительно минимальных значений, зафиксированных в 1992–1993 гг. [18, 19].

Для определения содержания ПХБ в поверхностных водах в чистых фоновых районах при их содержании на уровне следов требуются соответствующие методики. Например, при содержании ПХБ в воде ниже 2.0 нг/л их определение затруднено вследствие низкой растворимости, высокой гидрофобности и тенденции к накоплению в липидах, возможного поступления из лабораторного фона, которое может быть сопоставимым с содержанием аналитов в образце. Очевидно, поэтому в методиках, рекомендованных для определения ПХБ в природных водах, нижние границы диапазона определяемых концентраций ($c_{\rm H}$) соответствуют интервалу от 2.0 до 10 нг/л [20–22].

Разработанные методики анализа воды на первом этапе включают жидкостно-жидкостную экстракцию (ЖЖЭ) или твердофазную экстракцию. Экстракты очищают (в случае применения ЖЖЭ), концентрируют и анализируют методом жидкостной или газовой хроматографии с селективным детектированием [23]. Число конгенеров, которое может быть обнаружено в пробе, зависит как от уровня содержания ПХБ и ее матрицы, так и от используемого аналитического метода. Вследствие близких и совпадающих параметров удерживания отдельных конгенеров идентификация их пиков на хроматограммах относится к наиболее сложному этапу анализа, приобретающему критическое значение при содержании ПХБ на уровне следов. Для определения ПХБ в подобных пробах требуются методы, характеризующиеся не только низкими пределами обнаружения, но и высокой надежностью идентификации аналитических пиков.

Определение фиксированного числа конгенеров – "индикаторных конгенеров" ПХБ (**ИК**) – дает возможность унифицировать аналитическую процедуру в рамках серийного анализа. Как правило, присутствие ПХБ в поверхностных водах фоновых районов связано с одним доминирующим источником – глобальным атмосферным переносом. Оценка загрязнения поверхностных вод ПХБ по концентрации ИК в таких районах оправдана и представляет адекватные результаты [24].

В настоящей работе с целью контроля ПХБ в поверхностных водах на ультраследовом уровне концентраций предложена методика определения ИК (№№ по ИЮПАК: 28, 52, 101, 118, 153, 138 и 180). Поскольку мониторинг проводят в условиях серийного анализа, в методику включены стандартизованные этапы отбора проб, ЖЖЭ ПХБ в *н*-гексан и концентрирование экстрактов. Для обеспечения высокой надежности идентификации пиков ИК и точности результатов для определения выделенных аналитов применяли метод газовой хроматографии-тандемной массспектрометрии (ГХ-МС/МС) с детектированием пиков в режиме мониторинга заданных реакций (МЗР). Валидация методики включала оценку предела обнаружения и с_н, линейности градуировочных зависимостей в диапазоне концентраций ИК от 0.02 до 0.90 нг/л, и точности определения концентрации ИК. Методику апробировали при мониторинге ПХБ в водах озера Байкал, отличающихся минимальным содержанием взвешенного органического вещества (не более 0.01-0.05%) [25]) и низкой степенью минерализации (суммарная концентрация главных ионов в воде озера не превышает уровня 15-150 мг/л [26]).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и реагенты. Пробы воды в пелагиали Байкала (верхний волный слой с глубины 5 м) собирали в ходе кругобайкальских экспедиций с помощью кассетного пробоотборника SBE-32 (CarouselWaterSampler, Sea-BirdElectronics, CIIIA). На каждой станции пелагиали озера, в устьях притоков, на очистных сооружениях пробы отбирали в две стеклянные бутыли емк. 1 л, к которым добавляли 0.5 мл 1 М водного раствора азида натрия (MERCK, ос. ч.) в качестве консерванта. Бутыли с водой закрывали крышкой с прокладкой из алюминиевой фольги и хранили при +5°C до анализа в лаборатории. В качестве экстрагента использовали *н*-гексан сорт 1 (КРИОХРОМ[®], Россия), который перегоняли перед анализом над гидроксидом калия ч. д. а. (ВЕКТОН, Россия). Сульфат натрия х. ч. (НЕВАРЕАКТИВ[®], Россия) прокаливали при 600°С в течение 6 ч.

Подготовка проб и хромато-масс-спектрометрический анализ. Пробы байкальской, речной воды, очищенных сточных вод анализировали без фильтрования. К пробам воды (900–1000 мл, точный объем) добавляли суррогатный стандарт в 0.5 мл ацетона (смесь изотопномеченых ИК ПХБ "Marker-7 PCB Mixture (W/PCB-118) (${}^{13}C_{12}$ 99%)", Cambridge Isotope Laboratories, Inc., США, 10– 30 мкл, 0.1 нг/мкл каждого). Пробу с суррогатным стандартом встряхивали, выдерживали не менее часа при комнатной температуре и переносили в делительную воронку емк. 1.5 л. Затем к

			-	-		
№ИК	МЗР-переходы	<i>m/z¹</i> первичного иона	<i>m/z¹</i> вторичного иона	Время выдержки, мс	Энергия столкновения ² "collusion energy", B	Относительная интенсивность переходов ³ R _{target} (справочно)
			ИК – анали	ТЫ		·
28	M3P-1	256	186	10	25	0.64
	M3P-2	258	186	10	25	
52	M3P-1	290	220	10	25	0.41
	M3P-2	255	220	10	10	
101, 118	M3P-1	326	256	10	30	0.83, 0.63
	M3P-2	254	184	10	35	
153, 138	M3P-1	360	290	10	30	0.72, 0.69
	M3P-2	288	218	10	40	
180	M3P-1	394	324	10	30	0.45
	M3P-2	394	359	10	15	
	ļ	ИК	¹³ С ₁₂ – суррогатны	ые стандарты	ļ	1
28	M3P-1	268	198	10	25	0.64
	M3P-2	270	198	10	25	
52	M3P-1	302	232	10	25	0.42
	M3P-2	267	232	10	10	
101, 118	M3P-1	338	268	10	30	0.89, 0.63
	M3P-2	266	196	10	35	
153, 138	M3P-1	372	302	10	30	0.75, 0.72
	M3P-2	300	230	10	40	
180	M3P-1	406	336	10	30	0.49
	M3P-2	406	371	10	15	
	1	4,4'-,	Дибромбифенил	– стандарт выход	a	I
4,4'-	M3P-1	312	152	10	20	0.49
ДББФ	M3P-2	314	152	10	20	

Таблица 1. Условия детектирования в режиме мониторинга заданных реакций

¹Значения m/z для M3P-переходов получены на основе масс-спектров молекулярного и дочерних ионов, полученных для растворов аналитов и стандартов с известной концентрацией; ²для оптимизации интенсивности аналитического сигнала энергия столкновения варьировалась от 10 до 60 В с шагом 5 В; ³относительную интенсивность переходов оценивали как среднее арифметическое соотношений площадей пиков масс-фрагментограмм M3P-переходов, полученных для *n* градуировочных растворов.

пробе добавляли 25 мл *н*-гексана, смесь энергично встряхивали в течение 3–5 мин и оставляли до полного расслоения фаз. Верхний слой *н*-гексана отбирали в колбу емк. 250 мл, экстракцию повторяли. Экстракты объединяли, сушили над безводным сульфатом натрия, концентрировали на роторном испарителе до объема ~1 мл, затем в токе аргона до объема ~0.1 мл.

Подготовленные образцы анализировали на хромато-масс-спектрометре Agilent Technologies 7890В GC System 7000С GC-MS Triple Quad с капиллярной колонкой HT-8, SGE Analytical Science ($30 \text{ м} \times 0.25 \text{ мм} \times 0.25 \text{ мкм}$) в режиме программирования температуры колонки от 80 до 310° С со скоростью 15 град/мин с последующим выдерживанием при 310° С в течение 7 мин; температуре инжектора 280° С; температуре источника 230° С; температуре квадруполей 150° С; энергии ионизации 70 эВ. В колонку хроматографа образец вводили в режиме без деления потока, объем образца

Диапазон

концентра-

ций опре-

деляемого

ИК, нг/л

0.02-0.90

2–4 мкл. Пики ИК и стандартов регистрировали в режиме МЗР (табл. 1), идентифицировали по относительным временам удерживания (t_R), гомогенность аналитических пиков оценивали по соотношению площадей пиков двух переходов $R_{\rm ик} = S_{\rm M3P-2}/S_{\rm M3P-1}$ (**R**).

Количественное определение индикаторных конгенеров. Содержание ИК в пробах воды рассчитывали по метолу внутреннего станларта как среднее значение для двух результатов единичных измерений в двух емкостях, содержащих пробу, с использованием изотопномеченых ИК ПХБ $({}^{13}C_{12})$ в качестве суррогатных стандартов. Хромато-масс-спектрометр градуировали в интервале ожидаемых концентраций ИК в воде от 0.005 до 25 нг/л. Учитывая несложную матрицу проб (поверхностные воды в фоновых районах) и отсутствие матричного эффекта, градуировку проводили по градуировочным растворам, приготовленным в растворителе, используемом в качестве экстрагента. Растворы готовили дважды смешиванием соответствующих объемов аттестованной смеси ИК ("CEN PCB Congener Mix 1", Supelco, США) и суррогатных стандартов. Каждый раствор хроматографировали, измеряли площади аналитических пиков, строили градуировочные зависимости $S_a/S_{st} = k(m_a/m_{st})$, где S_a/S_{st} – отношение площадей M3P-1 переходов; m_a/m_{st} – отношение масс ИК и суррогатных стандартов; k градуировочный коэффициент (коэффициент чувствительности). Значение достоверности аппроксимации соответствовало условию $R^2 \ge 0.99$.

Показатели повторяемости и внутрилабораторной прецизионности для всех ИК, кроме конгенера № 180, оценивали по рабочим пробам согласно рекомендациям РМГ 61-2010 и РМГ 76-2014 [27, 28]. Показатель внутрилабораторной прецизионности оценивали с использованием алгоритма оценки среднего квадратического отклонения (СКО) через относительные размахи результатов измерений, полученных в соответствующих условиях по рекомендациям [28]. Результат оценки показателя точности включает как вклад от оценки показателя прецизионности измерений, так и вклад от оценки показателя правильности измерений, проведенной с применением метода добавок. В связи с ограниченным количеством реальных проб, содержащих ИК № 180 в концентрации выше $c_{\rm H}$ (25 параллельных проб в диапазоне концентраций 0.10-0.34 нг/л), данные для оценки показателя прецизионности получали в рамках оценивания показателя правильности измерений

YAN) H OTCUT-

$$\delta_{\Sigma} = \frac{\delta \sqrt{\sum c_i^2}}{c_{\Sigma}}$$

Точность определения суммарных концентра-

ций обнаруженных ИК (УИК) оценивали с уче-

том внутрилабораторной прецизионности измере-

ний как основного вклада в точность определения

индивидуальных концентраций по уравнению:

по рекомендациям [27]. Ниже приведены полученные нами значения перечисленных показателей:

Показатель

повторяе-

мости,

 $\sigma_{r, \text{ oth}}, \%$

15

Показатель

внутрила-

бораторной

прецизион-

ности

 $σ_{R$ лаб, отн</sub>, %

(n = 2)

17

где c_i – концентрации индивидуальных ИК, δ – интервальная оценка погрешности определения c_i – 35%, c_{Σ} – концентрация Σ ИК.

Исходя из полученных результатов при генерации в MS Excel 1 × 10⁴ случайных значений c_i для индивидуальных ИК в диапазоне от 0.02 до 0.90 нг/л статистические оценки δ_{Σ} составили: δ_{Σ} (min) = 13%, δ_{Σ} (max) = 23%, δ_{Σ} (med) = 15%, $P(\delta_{\Sigma} \le 17\%) = 0.959$, $P(\delta_{\Sigma} \le 18\%) = 0.990$.

Показатели правильности оценивали методом добавок с применением реальных проб и образцов сравнения для следующих диапазонов измерений, нг/л: I - (0.02-0.10) нг/л; II -(0.10-2.2) нг/л (табл. 2). В качестве добавки использовали растворы ИК с концентрациями 0.005 нг/мкл и 0.050 нг/мкл, приготовленные разбавлением аттестованной смеси ИК ацетоном. Введение добавок не приводило к увеличению объема пробы по отношению к начальному более чем на 1%. Оценка правильности результатов определения ИК (табл. 2) свидетельствует об отсутствии значимого вклада систематической погрешности в результат определения в регламентированном диапазоне измерений, а также в суммарную погрешность.

Полноту извлечения ИК *н*-гексаном оценивали по количеству суррогатного стандарта (табл. 3), добавленного к пробам дистиллированной воды (V = 1000 мл) в количестве 10–30 мкл (0.1 нг/мкл, ацетон). Экстракцию ИК и концентрирование экстрактов проводили в условиях, используемых в разработанной методике. Содержание ИК в экстрактах определяли методом внешнего стандарта (4,4'-дибромобифенил (**ДББФ**), 10 мкл,

Показатель

точности.

 $\pm \delta$, % (*n*=2,

P = 0.95)

35

КУСТОВА и др.

№ИК	Содержание ИК в пробе воды, нг/л		Введено, нг		Найдено, нг/л		Добавка, нг	
	Ι	II	Ι	II	Ι	II	Ι	II
28	0.09 ± 0.03	1.1 ± 0.25	0.07	1.0	0.16 ± 0.06	2.2 ± 0.51	0.07 ± 0.02	1.1 ± 0.25
52	0.07 ± 0.02	1.1 ± 0.25	0.07	1.0	0.14 ± 0.05	2.1 ± 0.48	0.07 ± 0.02	1.0 ± 0.23
101	0.05 ± 0.02	0.40 ± 0.14	0.05	0.35	0.10 ± 0.04	0.70 ± 0.25	0.04 ± 0.01	0.32 ± 0.11
118	0.04 ± 0.01	0.38 ± 0.13	0.05	0.35	0.09 ± 0.03	0.73 ± 0.26	0.04 ± 0.01	0.32 ± 0.11
153	0.03 ± 0.01	0.12 ± 0.04	0.03	0.10	0.06 ± 0.02	0.22 ± 0.08	0.03 ± 0.01	0.10 ± 0.04
138	0.03 ± 0.01	0.12 ± 0.04	0.03	0.10	0.06 ± 0.02	0.21 ± 0.07	0.03 ± 0.01	0.10 ± 0.04
180	0.03 ± 0.01	0.11 ± 0.04	0.02	0.10	0.06 ± 0.02	0.21 ± 0.07	0.03 ± 0.01	0.10 ± 0.04

Таблица 2. Оценка правильности результатов определения индикаторных конгенеров в байкальской воде методом введено-найдено (*n* = 3, *P* = 0.95)

Примечание: І – диапазон концентраций ИК в пробах от 0.02 до 0.10 нг/л, содержание ИК в добавке не менее 80% от содержания ИК в пробе воды; ІІ – диапазон концентраций ИК в пробах от 0.11 до 2.2 нг/л, содержание ИК в добавке не менее 50% от содержания ИК в пробе воды.

Таблица 3.	Аналитические	характеристики	методики	определения	индикаторных	конгенеров и	в воде н	а ульт-
раследовом	и уровне концент	граций						

Характеристика	№ ИК							
ларактеристика	28	52	101	118	138	153	180	
Извлечение <u>(среднее значение), %</u> СКО (<i>n</i> = 20)	<u>73</u> 0.08	<u>81</u> 0.11	<u>84</u> 0.12	<u>85</u> 0.06	<u>87</u> 0.08	<u>89</u> 0.08	<u>92</u> 0.08	
Градуировочные зависимости:								
$\frac{k}{R^2}$	<u>0.92</u> 0.999	<u>1.00</u> 0.999	<u>1.12</u> 0.999	<u>1.11</u> 0.999	<u>0.99</u> 0.999	<u>1.08</u> 0.999	<u>1.09</u> 0.999	
Средняя величина <u>pearent-бланков, нг</u> СКО (<i>n</i> = 68)	<u>0.021</u> 0.001	<u>0.021</u> 0.001	<u>0.019</u> 0.002	<u>0.015</u> 0.002	<u>0.008</u> 0.001	<u>0.008</u> 0.002	<u>0.001</u> 0.0002	
<i>с</i> _н , нг/л	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	
Предел обнаружения при отношении S/N ≥ 3, пг/пик	0.4	0.4	0.4	0.4	0.2	0.2	0.2	

0.5 нг/мкл), который добавляли к экстрактам непосредственно перед ГХ-МС/МС-анализом.

Лабораторный фон ПХБ, суррогатные стандарты, содержащие в качестве примеси ИК без изотопной метки в структуре, могут вносить систематическую погрешность в результат определения, причем ее величина может быть значимой при определении ИК на ультраследовом уровне концентраций. Систематическую погрешность определения ИК оценивали по величине реагентбланков (табл. 3), значения которых (содержание ИК в экстракте, полученном по процедуре подготовки без пробы воды) определяли до и после экстракции каждых 10 проб в серии образцов байкальской воды с использованием всего набора стеклянной посуды, реактивов, суррогатного стандарта и хромато-масс-спектрометрического оборудования. С учетом систематической погрешности граница $c_{\rm H}$ в методике установлена на уровне 0.01–0.02 нг/л, которая на два порядка величины ниже, чем в ГОСТ Р 54503-2011 [20].


Рис. 1. Масс-фрагментограммы экстракта верхнего водного слоя байкальской воды (5 м), отобранной в сентябре 2020 г. в Южном Байкале. Детектирование пиков в режимах МЗР (а) и МВИ (б). Пики индикаторных конгенеров (а), № (пг/пик): 28 (0.80); 52 (1.0); 101 (1.2); 118 (0.60); 153 (0.40); 138 (0.20); 180 ($< c_{\rm H}$). Пики индикаторных конгенеров (б), № (пг/пик): 28 (0.80); 52 (1.2); 101 (1.0); 153 (0.40). Пики конгенеров № 118 и 138 негомогенны, пик конгенера № 180 характеризуется значением S/N < 3.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Определение индикаторных конгенеров в воде на ультраследовом уровне концентраций. Методика определения ИК в воде включает отбор проб объемом 1 л, который признан оптимальным. Увеличение объема пробы и соответственно объема получаемого экстракта и степени концентрирования не решает проблему снижения $c_{\rm H}$ вследствие роста интенсивности пиков сопутствующих компонентов и увеличивает затраты времени и ресурсов. При уменьшении объема пробы и содержании ИК в воде на уровне концентрации 0.02 нг/л количество ИК, извлекаемых из пробы, недостаточно для регистрации аналитических пиков с соотношением сигнал/шум $(S/N) \ge 3$, вклад ПХБ из лабораторного фона может быть сравнимым с содержанием аналитов в экстракте.

Эффективность извлечения ИК *н*-гексаном из воды с низким уровнем минерализации лежит в диапазоне от 73 до 92%. Учитывая область применения методики — поверхностные воды в чистых фоновых районах, отличающихся минимальным уровнем загрязнения, — стадия очистки экстрактов исключена, и определение ИК основано на прямом вводе концентратов в хроматографическую колонку. При разделении концентратов на капиллярных колонках с карборановой фазой (HT-8) [29] и детектировании в режиме МЗР на хроматограммах регистрируются разрешенные пики ИК с соотношением S/N ≥ 3, число и интенсивность пиков сопутствующих компонентов в экстракте минимальны (рис. 1а). Пара конгенеров (№№ 28 и 31) разделяется до базовой линии, но при "старении" колонки после выполнения ~1000 анализов разрешение этой пары снижается. Конгенеры №№ 52 и 69 имеют равные времена удерживания, но конгенер № 69 отсутствует как в смесях ПХБ, так и во фракциях ПХБ, выделенных из природных объектов. Анализ тех же самых экстрактов с применением метода ГХ и детектирования в режиме мониторинга выбранных ионов (МВИ), регламентированного национальным стандартом [20], отличается падением селективности и регистрацией неразрешенных пиков ИК (рис. 1б).

Режим детектирования МЗР резко повышает как чувствительность анализа за счет увеличения специфичности, так и его селективность в связи с уменьшением фоновых сигналов от матрицы и дает возможность проводить прямой анализ сконцентрированных экстрактов. Надежность идентификации аналитических пиков обеспечена двумя критериями: t_R и относительной интенсивностью переходов *R*. Возможное отклонение значений t_R идентифицируемого пика ИК от t_R суррогатного стандарта регламентировано интер-

КУСТОВА и др.

Район, сезон отбора проб		Число конгенеров ПХБ	ΣПХБ, нг/л	Число ИК	ΣИК, нг/л	Вклад ΣИК в ΣПХБ, %
Пелагиаль озера Байкал						
2015 г.	Май	24-34	1.4–6.6	7	0.43-2.0	28-35
2016 г.	Май	15-27	0.45-3.1	6	0.23-1.2	38-58
	Сентябрь	6-20	≥0.11-0.60	3-6	≥0.11–0.33	55-70
2018 г.	Май	7-16	≥0.11-0.73	4–6	≥0.11–0.42	58-70
2019 г.	Май	7-21	0.13-0.82	4–6	0.10-0.47	57-70
	Сентябрь	9–27	0.24-2.8	6-7	0.17-1.3	46-71
2020 г.	Май	10-16	0.20-0.75	5-6	0.14-0.37	49-72
	Сентябрь	7–25	0.25-0.47	4–6	0.16-0.24	50-65
Притоки Южного Байкала						
2017 г., май	р. Хара-Мурин	10	0.13	6	0.11	61
	р. Солзан	9	0.11	5	0.11	60
	р. Снежная	3	≥0.11	2	≥0.11	_
2019 г., сентябрь	р. Хара-Мурин	16	1.8	7	0.85	46
	р. Солзан	20	3.2	7	1.3	41
	р. Снежная	21	3.6	7	1.5	41

Таблица 4. Содержание ПХБ и ИК, обнаруженных в верхнем водном слое пелагиали (5 м) и притоках озера Байкал

валом $\pm 0.15\%$; отклонение *R* пиков ИК от *R*_{target} пиков ИК, полученных для градуировочных растворов $\pm 30\%$ [30].

Градуировочные зависимости в диапазоне масс ИК от 0.02 до 25 пг/пик характеризуются коэффициентами корреляции $R^2 = 0.999$ (табл. 4). Определение ИК на следовом уровне концентраций предполагает взвешенный выбор внутреннего стандарта. Включение в методику структурных аналогов ПХБ или конгенеров, отсутствующих в анализируемых пробах [31, 32], в качестве суррогатных внутренних стандартов приводит к разбросу чувствительности определения ИК (вееру градуировок). Например, коэффициенты чувствительности ИК при использовании ДББФ в качестве внутреннего стандарта лежат в диапазоне от 0.50 до 2.18 (рис. 2а), в случае пентахлорированных бифенилов при использовании в качестве стандарта конгенера № 118 ¹³С₁₂ – в диапазоне от 0.57 до 1.42 (рис. 26). Градуировка ИК с изотопномечеными стандартами ПХБ (¹³C₁₂) нивелируют разброс чувствительности определения ИК (табл. 3).

Валидация методики определения полихлорированных бифенилов в воде на ультраследовом уровне концентрациий. Валидацию методики проводили в рамках мониторинга ПХБ в водной экосистеме Байкала в разные сезоны (весна, осень) в течение 2015-2020 гг. Показано, что в составе обнаруженных ПХБ доминируют три-, тетра- и пентахлорированные гомологи, число идентифицированных конгенеров составило 6-34, и их суммарные концентрации (ΣПХБ) лежат в диапазоне от ≤0.12 до 6.6 нг/л (табл. 4). За исключением конгенера № 180, ИК присутствовали во всех исследованных пробах, содержание конгенеров №№ 153 и 138 в единичных образцах было ниже границы c_{μ} . При минимальном содержании ПХБ в воде (ΣПХБ≥0.11 нг/л) состав фракции ПХБ представлен доминирующими ИК №№ 28, 52, 101, 118. Суммарная концентрация ИК в водах Байкала составила от ≥ 0.11 до 2.0 нг/л, а их доля в $\Sigma \Pi X \overline{B}$ –



Рис. 2. Градуировочные зависимости для определения индикаторных конгенеров (внутренний стандарт 4,4'-дибромобифенил) (а): № конгенера (k) – 28 (2.18), 52 (1.24), 118 (0.74), 101 (0.70), 153 (0.69), 138 (0.59), 180 (0.50); градуиовочные зависимости для определения пентахлорбифенилов (внутренний стандарт конгенер № 118 ${}^{13}C_{12}$) (б): № конгенера (k) – 121 (1.42), 118 (1.11), 112 (1.06), 101 (1.08), 114 (0.90), 105 (0.81), 123 (0.78), 126 (0.57).

28—72%. За период мониторинга ПХБ в водах озера (с 2015 по 2020 гг.) отмечено снижение концентрации Σ ПХБ в водах Байкала и достижение ее минимального уровня, зафиксированного в 1992 г. (0.02—0.59 нг/л [18]) и в 1993 г. (0.13—1.9 нг/л [19]).

Разработанная методика апробирована при анализе проб с относительно высоким содержанием ИК (до 10 нг/л) и характеризуется достаточно высокой точностью определения содержания ИК ($\delta = 10-23\%$, P = 0.95) в образцах воды, собранных в южной котловине озера (май 2015 г.), в притоках Южного Байкала (сентябрь 2019 г.) (табл. 4), и в сточных водах после прохождения очистных сооружений. В образцах сточных вод г. Северобайкальска содержание ПХБ оценили величиной $\Sigma \Pi X Б$, равной 31 нг/л (32 конгенера), и величиной ΣИК, равной 9.8 нг/л (7 конгенеров). На расстоянии до 2.5 км от точки сброса стоков в р. Тыя концентрации ΣПХБ и ΣИК в речной воде снизились в 30 раз до уровней 0.95 и 0.31 нг/л соответственно [33].

Применение в предложенной методике традиционного способа ЖЖЭ как наиболее простого, не требующего специального оборудования и реагентов, наиболее перспективно для целей мониторинга ПХБ. Прямой анализ экстрактов проб воды, собранных в чистых фоновых районах и отличающихся несложной матрицей, дает возможность сократить суммарное время определения ПХБ. Хроматография экстрактов на колонках с карборановой фазой и применение метода ГХ–МС/МС обеспечивают высокую надежность идентификации пиков и точность количественного определения ИК на ультраследовом уровне концентрации.

Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ, проекты № 0279-2019-0003 (АААА-А19-119070190033-0) и № 0279-2021-0005 (№ гос. регистрации 121032300224-8), при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Иркутской области, проект № 17-45-388077 р_а, на оборудовании приборного центра коллективного пользования физико-химического ультрамикроанализа ЛИН СО РАН (ЦКП "Ультрамикроанализ").

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Wolska L., Mechlinska A., Rogowska J., Namiesnik J. Sources and fate of PAHs and PCBs in the marine environment // Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. 2012. V. 42. P. 1172.
- 2. Федеральный закон о ратификации Стокгольмской конвенции о стойких органических загрязнителях от 27 июня 2011 г. http://kremlin.ru/acts/11757. (14.09.2020).
- Стокгольмская конвенция. О Стойких Органических Загрязнителях (СОЗ). С поправками 2017 г. http:// Downloads/UNEP-POPS-COP-CONVTEXT-2017. Russian.pdf. (14.01.2021).

- 4. OSPAR Commission. Protecting and conserving the North-East Atlantic and its resources. https://www.ospar.org/convention_(12.12.2020).
- 5. IARC-International Agency for Research on Cancer. Polychlorinated and Polybrominated Biphenyls. Lyon, France: IARC Monographs, 2016. V. 107.
- Ampleman M.D., Martinez A., De Wall J., Rawn D.F.K., Hornbuckle K.C., Thorne P.S. Inhalation and dietary exposure to PCBs in urban and rural cohorts via congener-specific measurements // Environ. Sci. Technol. 2015. V. 49. P. 1156.
- Jennifer P., Houseman E.A., Smit E., Kile M.L. A path analysis of multiple neurotoxic chemicals and cognitive functioning in older US adults (NHANES 1999–2002) // Environ. Health. 2017. V. 16. P. 1.
- AMAP, Assessment 2015: Temporal Trends in Persistent Organic Pollutants in the Arctic. Oslo, Norway: Arctic Monitoring and Assessment Program (AMAP), 2016. 71 p.
- Hu D., Hornbuckle K.C. Inadvertent polychlorinated biphenyls in commercial paint pigments // Environ. Sci. Technol. 2010. V. 44. P. 2822.
- Pomata D., Di Filippo P., Riccardi C., Rossi V., Simonetti G., Sonego E., Buiarelli F. Method optimization for the simultaneous determination of legacy and emerging halogenated flame retardants in particulate matter collected in an electronic waste recycling facility // Int. J. Environ. Anal. Chem. 2019. V. 8. P. 1.
- Lohmann R., Northcott G., Jones K. Assessing the contribution of diffuse domestic burning as a source of PCDD/Fs, PCBs, and PAHs to the UK atmosphere // Environ. Sci. Technol. 2000. V. 34. P. 2892.
- Ikonomou M., Sather P., Oh J., Choi W., Chang Y. PCB levels and congener patterns from Korean municipal waste incinerator stack emissions // Chemosphere. 2002. V. 49. P. 205.
- 13. Fernández P., Grimalt J.O. On the global distribution of persistent organic pollutants // Environ. Anal. Chem. 2003. V. 57. № 9. P. 514.
- McLachlan M.S., Undeman E., Zhao F., MacLeod M. Predicting global scale exposure of humans to PCB 153 from historical emissions // Environ. Sci. Proc. Imp. 2018. V. 20. P. 747.
- Самсонов Д.П., Кочетков А.И., Пасынкова Е.М., Запевалов М.А. Содержание стойких органических загрязнителей в компонентах уникальной экологической системы озера Байкал // Метеорология и гидрология. 2017. № 5. С. 105.
- 16. Горшков А.Г., Кустова О.В., Дзюба Е.В., Захарова Ю.Р., Шишлянников С.М., Хуторянский В.А. Полихлорированные бифенилы в водной экосистеме Байкала // Химия в интересах устойчивого развития. 2017. Т. 25. № 3. С. 269. (Gorshkov A.G., Kustova O.V., Dzyuba E.V., Zakharova Yu.R., Shishlyannikov S.M., Khutoryanskiy V.A. Polychlorinated biphenyls in lake baikal ecosystem // Chem. Sustainable Dev. 2017. V. 25. P. 255.)

- Gorshkov A.G., Kustova O.V., Izosimova O.N., Babenko T.A. POPs monitoring system in lake Baikal – Impact of time or the first need? // Limnol. Freshwater Biol. 2018. № 1. P. 43.
- Iwata H., Tanabe S., Ueda K., Tatsukawa R. Persistent orgnochlorine residues in air, water, sediments, and soils from the Lake Baikal region, Russia // Environ. Sci. Technol. 1995. V. 29. № 3. P. 792.
- Kucklik J.R., Harvey H.R., Ostrom P.H., Ostrom H.E., Baker J.E. Organochlorine dynamics in the pelagic food web of Lake Baikal // Environ. Toxicol. Chem. 1996. V. 15. № 8. P. 1388.
- ГОСТ Р 54503-2011 Вода. Методы определения содержания полихлорированных бифенилов. М.: Стандартинформ, 2013. 27 с.
- 21. EPA Method 8082. Polychlorinated Biphenyls (PCBs) by Gas Chromatography.
- 22. ПНД Φ 14.1:2:3:4.204-04 Методика определения хлорорганических пестицидов и полихлорированных бифенилов в питьевых, природных и сточных водах методом газовой хроматографии. Екатеринбург: СЕРТИМЕТ, 2018. 28 с.
- Reddy A.V.B., Moniruzzaman M., Aminabhavi T.M. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in the environment: Recent updates on sampling, pretreatment, cleanup technologies and their analysis // Chem. Eng. J. 2019. V. 358. P. 1186.
- Megson D., Benoit N.B., Sandau C.D., Chaudhuri Sri R., Long T., Coulthard E., Johnson G.W. Evaluation of the effectiveness of different indicator PCBs to estimating total PCB concentrations in environmental investigations // Chemosphere. 2019. V. 237. Article 124429.
- 25. Yoshioka T., Ueda S., Khodzher T., Bashenkhaeva N., Korovyakova I., Sorokovikova L., Gorbunova L. Distribution of dissolved organic carbon in Lake Baikal and its watershed // Limnology. 2002. V. 3. № 3. P. 159.
- 26. Домышева В.М., Сороковикова Л.М., Синюкович В.Н., Онищук Н.А., Сакирко М.В., Томберг И.В., Жученко Н.А., Голобокова Л.П., Ходжер Т.В. Ионный состав воды озера Байкал, его притоков и истока реки Ангара в современный период // Метеорология и гидрология. 2019. № 10. С. 77.
- 27. РМГ 61-2010 Рекомендации по межгосударственной стандартизации. Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. М.: Стандартинформ, 2012. 62 с.
- 28. РМГ 76-2014 Рекомендации по межгосударственной стандартизации. Государственная система обеспечения единства измерений. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа. М.: Стандартинформ, 2015. 116 с.
- 29. Larsen B., Cont M., Montanarella L., Platzner N. Enhanced selectivity in the analysis of chlorobiphenyls on a carborane phenylmethylsiloxane copolymer gas chro-

matography phase (HT-8) // J. Chromatogr. A. 1995. V. 708. № 1. P. 115.

- SANTE/11813/2017. Guidance document on analytical control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. European commission. 21–22 November 2017. Rev.0.
- Никонова А.А., Горшков А.Г. Определение полихлорированных бифенилов в природных средах и биологических объектах методом скоростной масс-спектрометрии // Журн. аналит. химии 2012. Т. 67. № 1. С. 74. (*Nikonova A.A., Gorshkov A.G.* Determination of polychlorinated biphenyls by fast chro-

matography-mass-spectrometry in environmental and biological objects // J. Anal. Chem. 2012. V. 67. № 1. P. 73.)

- 32. Holst von C., *Muller A., Bjorklund E., Anklam E.* Inhouse validation of a sampled method for the determination of PCBs in food and feeding stuffs // Eur. Food Res. Technol. 2001. V. 213. P. 154.
- Gorshkov A.G., Kustova O.V., Tomberg I.V., Zhuchenko N.A., Sakirko M.V., Khutoryansky V.A. Polychlorinated biphenyls in the tributaries of Southern Baikal // Limnol. Freshwater Biol. 2020. № 1. P. 353.

———— ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ ———

УДК 543.552

СЕНСОР ДЛЯ РАСПОЗНАВАНИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭНАНТИОМЕРОВ ТРИПТОФАНА НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО ЭНАНТИОМОРФНЫМИ КРИСТАЛЛАМИ БРОМТРИФЕНИЛМЕТАНА УГОЛЬНО-ПАСТОВОГО ЭЛЕКТРОДА

© 2021 г. Ю. А. Яркаева^{а,} *, Е. Н. Исламуратова^а, Л. Р. Загитова^а, В. Ю. Гуськов^а, Р. А. Зильберг^а, В. Н. Майстренко^а

^аБашкирский государственный университет, химический факультет ул. Заки Валиди, 32, Уфа, 450076 Россия *e-mail: julijajarkaeva05@gmail.com Поступила в редакцию 30.03.2021 г. После доработки 14.04.2021 г. Принята к публикации 14.04.2021 г.

Разработан энантиоселективный вольтамперометрический сенсор на основе угольно-пастового электрода, модифицированного энантиоморфными кристаллами бромтрифенилметана, для распознавания и определения энантиомеров триптофана. Энантиоморфные кристаллы бромтрифенилметана получены по механизму созревания Виедмы. Изучены электрохимические и аналитические характеристики сенсора. Предложенный сенсор использован для распознавания и определения Lи D-энантиомеров триптофана в модельных растворах фармацевтических препаратов, моче и плазме крови человека. Предложенный сенсор прост в изготовлении, проявляет высокую воспроизводимость и стабильность. Показано, что с использованием хемометрической обработки данных наличие даже небольших различий между вольтамперограммами энантиомеров на предложенном угольно-пастовом электроде достаточно для их достоверного распознавания.

Ключевые слова: бромтрифенилметан, энантиоморфные кристаллы, угольно-пастовый электрод, энантиомеры триптофана, модифицированный электрод, вольтамперометрия. **DOI:** 10.31857/S0044450221110177

Известно, что энантиомеры обладают одинаковыми физическими и химическими свойствами (температурой кипения, температурой плавления, растворимостью, электропроводностью и т.д.), но в зависимости от ориентации заместителей вокруг асимметричного атома углерода поразному реагируют с хиральными соединениями, чем объясняется их различное физиологическое действие. Например, ферменты часто проявляют реакционную способность только по отношению к одному из энантиомеров [1]. Это характерно и для оптически активных лекарственных соединений, которые существуют в виде двух или нескольких пространственных изомеров. Их фармакологическая активность обычно связана с действием лишь одного стереоизомера [2], что свидетельствует о важности хирального анализа и привело к созданию большого количества методов распознавания и определения энантиомеров лекарственных соединений и биологически активных веществ. Однако, такие методы как круговой дихроизм [3], капиллярный электрофорез, высокоэффективная жидкостная хроматография

[4] и др. порой малочувствительны, требуют дорогостоящего оборудования [5], храктеризуются невысокой производительностью для рутинного анализа. Альтернативой данным методам являются электрохимические сенсоры, которые получают все более широкое распространение для распознавания хиральных молекул из-за высокой селективности и чувствительности, низкой себестоимости и возможности экспрессного обнаружения [6]. Широкое применение среди них получили энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры (ЭВС) [7]. Энантиоселективность ЭВС достигается за счет хирального селектора, иммобилизованного на поверхности или в объеме электрода, на котором происходит регистрация определяемого энантиомера [8]. В течение последнего десятилетия предложены различные подходы и хиральные материалы на основе соединений природного или синтетического происхождения, обладающие молекулярной хиральностью в виде, как правило, соединений с асимметрическим атомом углерода (так называемые "хиральные 1D материалы") [9], к которым отно-

сятся полисахариды и их производные, аминокислоты и др. Кроме них повышенный интерес вызывают новые материалы: хиральные 2D материалы, имеющие планарную структуру [10, 11], к которым относятся парациклофаны, пиллар[n]арены и металлоцены, 2D графен, 2D материалы на основе хиральных супрамолекулярных сборок [12–14] и др., и хиральные 3D материалы с объемной пористой структурой [10] – хиральные металлоорганические каркасные структуры, хиральные цеолиты, нанокластеры с пористой структурой [15–17] и др. К таким материалам можно также отнести различные кристаллические соединения, обладающие энантиоморфностью. Например, аморфный диоксид кремния является оптически неактивным веществом, однако, когда он кристаллизуется в кварц, то образует оптически активные энантиоморфные (хиральные) кристаллы, а именно: право- и левовращающие кристаллы кварца. Этот процесс называется хиральной кристаллизацией. Хиральная кристаллизация характерна не только для диоксида кремния, но и для других кристаллических соединений, включая неорганические (NaClO₃, MgSO₄·7H₂O, KLiSO₄) [9], органические (замещенные производные бензола, полициклические ароматические соединения, гетероциклические соединения, хиноны и др.) и металлоорганические [10, 11]. Лучший способ установления хиральности кристаллов - выяснение с помощью рентгеноструктурного анализа пространственного расположения в них функциональных групп. Из 230 теоретически возможных расположений пространственных групп в кристаллах 65 являются хиральными, такие как Р2₁, Р212121, РЗ и т.д. [18]. Как правило, в обычных условиях осаждения кристаллов из ахиральных соединений сложно получить смесь, в которой преобладают энантиоморфные кристаллы (+ или Для этого чаще всего используют внешнее воздействие, например, механическое перемешивание, изменение температуры, добавление хиральной затравки и т.д. Хиральность может быть индуцирована с помощью эффекта Кондепуди, заключающегося в получении хиральных кристаллов из ахиральных соединений при интенсивном перемешивании упариваемого раствора [19-22]. Группа испанских химиков под руководством Виедма [23] показала, что при нагревании раствора аспарагиновой кислоты с добавлением салицилового альдегида и уксусной кислоты при 100-130°С образуются кристаллы одного оптического изомера. Получение энантиоморфных кристаллов, образованных по механизму созревания Виедмы, многократно подтверждено различными научными группами [24, 25]. Несмотря на всплеск интереса к энантиоморфным кристаллам в практике хирального вольтамперометрического анализа сенсоры на их основе не использовались. Подтверждением возможности использования энантиоморфных кристаллов, образованных по механизму созревания Виедмы, для энантиоселективного определения являются работы в области хроматографии [26, 27]. Ранее авторами представленной статьи были разработаны сенсоры и сенсорные системы на основе хиральных супрамолекулярных структур урацила [13], меламина и циануровой кислоты [12, 14], а также нанокластеров 3,4,9,10-перилентетракарбоновой кислоты [15, 16], образующихся по аналогичному механизму, для определения и распознавания энантиомеров антиаритмических препаратов и жизненно важных аминокислот.

В настоящей работе в качестве хирального селектора при создании ЭВС был выбран бромтрифенилметан (БТФМ), энантиоморфные кристаллы которого получены по механизму созревания Виедмы. На рис. 1 представлена кристаллическая структура БТФМ, изображение которой опубликовано на сайте Кембриджской структурной базы данных [28, 29], позволяющей получить доступ к трехмерным структурам молекул, определенным экспериментально с использованием дифракционных методов. Молекулы БТФМ в кристалле связаны парами, при этом реализуется взаимодействие "голова к голове" Ph₃C-Br…Br-CPh₃, характеризующееся длинными связями C-Br и короткими контактами Br…Br [30]. Энантиоморфные кристаллы БТФМ имеют пространственную группу симметрии РЗ, которая является хиральной [18]. Строение подобных структур изучено также на примере энантиоморфных кристаллов иод- и хлортрифенилметана [31, 32].

В качестве аналита для апробации разработанного сенсора использовали ранее хорошо изученную аминокислоту триптофан (**Трп**), являющуюся незаменимой аминокислотой, энантиомеры которой выполняют различные физиологические и метаболические функции в организме человека. При этом L-Трп является биологически активным соединением, дефицит которого может вызвать различные хронические заболевания, а D-энантиомер участвует в синтезе пептидных антибиотиков и иммуносупрессантов [33, 34]. Основные подходы к созданию ЭВС для определения энантиомеров триптофана, в том числе с применением циклодекстринов и неометилиндена, рассмотрены в работах [35, 36].

С использованием методов электрохимической импедансной спектроскопии (ЭИС), циклической и квадратно-волновой вольтамперометрии изучены электрохимические и аналитические характеристики угольно-пастового электрода (УПЭ), модифицированного энантиоморфными кристаллами БТФМ, проведено определение энантиомеров Трп в модельных растворах, в моче и плазме крови человека, в фармацевтических препаратах. Показано, что с использованием хемометриче-



Рис. 1. Кристаллическая структура бромтрифенилметана.

ского подхода, в частности методов главных компонент (**МГК**) и проекции на латентные структуры с дискриминантным анализом (**ПЛС-ДА**), можно с высокой вероятностью распознавать энантиомеры Трп независимо от их концентрации.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оборудование и реагенты. Для электрохимических измерений применяли потенциостат-гальваностат Autolab PGSTAT 204 (MetrohmAutolab Ins., Нидерладны) с модулем импеданса FRA 32M (Metrohm Autolab Ins., Нидерладны) с программным обеспечением NOVA. Измерения проводили в стандартной трехэлектродной ячейке объемом 20 мл, состоящей из модифицированного угольно-пастового электрода диаметром 2 мм, вспомогательного электрода, выполненного в виде платиновой пластинки, и хлоридсеребряного электрода сравнения. Значения рН растворов измеряли с помощью pH-метра Seven Compact pH/Ion S220 (Mettler-Toledo AG, Швейцария). Для перемешивания графитовой пасты при модифицировании кристаллами бромтрифенилметана использовали магнитную мешалку MR Hei-Tec (Heidolph, Германия). При пробоподготовке образцов мочи и плазмы крови человека использовали центрифугу СМ-6МТ (ELMI, Латвия).

Исследуемые вещества D- и L-триптофан (ч. д. а.) приобретали у Sigma-Aldrich (США). Фоновым электролитом служил 0.1 М фосфатный буферный раствор, содержащий Na_2HPO_4 и KH_2PO_4 (рН 6.9). Стандартные растворы D- и L-Трп получали растворением точных навесок реагентов в 25 мл 0.1 М фосфатного буферного раствора. Растворы более низких концентраций получали разбавлением исходных растворов Трп. Раствор [Fe(CN)₆]^{3-/4-} (5 мМ) готовили на фоне 0.1 М КСl и использовали в качестве стандартного при электрохимических измерениях.

Образцы мочи получали с письменного согласия донора, плазму крови приобретали на Уфимской Республиканской станции переливания крови. Образцы мочи и плазмы крови объемом 2.5 мл центрифугировали в течение 10 мин и разбавляли в 10 раз фосфатным буферным раствором с рН 6.9. В полученные растворы добавляли известные количества D- и L-Трп для получения растворов с концентрациями 0.08 и 0.04 мМ. Растворы фармацевтических препаратов, содержащие L-триптофан, готовили растворением точной навески образца в мерных колбах емк. 100 мл в фосфатном буферном растворе (рН 6.9) и разбавляли далее до необходимой концентрации. Для приготовления растворов использовали деионизованную воду с удельной проводимостью 0.1 мкСм/см.

Модифицирование графита и изготовление угольно-пастового электрода. Для модифицирования графита 1 г бромтрифенилметана растворяли в 85.5 мл толуола при комнатной температуре и вносили порошок графита массой 10 г, затем отгоняли толуол при температуре 120°С и постоянном перемешивании с помощью магнитной мешалки. Модифицированный бромтрифенилметаном порошок графита высушивали в сушильном шкафу и смешивали со скваланом: к 0.1 г модифицированного БТФМ графита добавляли 1 каплю сквалана (0.022 г). Полученной графитовой пастой заполняли стеклянный цилиндр корпуса УПЭ диаметром 2 мм. В качестве токосъемника использовали медную проволоку диаметром 2 мм, поверхность которой перед каждым измерением очищали. После заполнения УПЭ пастой рабочую поверхность электрода выравнивали на гладкой кальке.

Методика эксперимента. Квадратно-волновые вольтамперограммы регистрировали в диапазоне потенциалов от 0 до 1.2 В со скоростью развертки 20 мВ/с. Спектры электрохимического импедан-

1040



Рис. 2. Циклические вольтамперограммы (а) и диаграммы Найквиста (б) для УПЭ и УПЭ/БТФМ в 5.0 мМ растворе редокс-пары $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ (1:1); 0.1 М раствор KCl, скорость развертки потенциала 0.1 В/с.

са регистрировали в диапазоне частот от 500 кГц до 0.1 Гц с амплитудой 10 мВ. Циклические вольтамперограммы регистрировали в диапазоне потенциалов от 0 до 1.3 В со скоростью развертки потенциала 0.1 В/с. Массив данных для каждого образца состоял из 10 параллельных измерений. Для хемометрической обработки данных использовали программное обеспечение The Unscrambler (САМО, Норвегия). Все измерения проводили при температуре (25 ± 0.1)°С.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе разработки ЭВС на основе УПЭ, модифицированного энантиоморфными кристаллами БТФМ, выбрали оптимальное массовое соотношение графит/квалан, влияющее на высоту пика окисления энантиомеров Трп и относительное стандартное отклонение аналитического сигнала. Для этого приготовили графитовые пасты трех составов, содержащие 1, 2 и 3 капсквалана с массовыми соотношениями графит/сквалан 1:0.22, 1:0.44 и 1:0.66 соответственно. Полученные результаты свидетельствуют, что при увеличении содержания сквалана ток пика окисления Трп на немодифицированном УПЭ уменьшается от 12.7 ± 0.1 до 5.4 ± 0.3 мкА, а относительное стандартное отклонение увеличивается от 2.4 до 8.0%. В дальнейшей работе использовали графитовую пасту с массовым соотношением графит/сквалан 1:0.22, которая к тому же имеет высокую вязкость и удобна для работы.

Электрохимические характеристики и значения активной площади поверхности немодифициро-

тиоморфными кристаллами БТФМ (УПЭ/БТФМ), получали с использованием ЭИС и циклической вольтамперометрии для стандартного 5 мМ раствора [Fe(CN)₆]^{3-/4-}. Из рис. 2а видно, что циклические вольтамперограммы в таком растворе соответствуют классическому одноэлектронному процессу, характерному для ферроцианид-ионов. При этом модифицирование графита энантиоморфными кристаллами БТФМ приводит к незначительному увеличению тока пика, что обусловлено увеличением активной плошали поверхности модифицированного УПЭ, рассчитанной по уравнению Рэндлса-Шевчика [37]. Это отражается также и на диаграммах Найквиста (рис. 2б), на которых сопротивление переноса электрона R_{et} для модифицированного УПЭ уменьшается. Параметры спектров электрохимического импеданса и активная площадь поверхности электродов представлены в табл. 1.

ванного УПЭ и УПЭ, модифицированного энан-

Известно, что на УПЭ Трп необратимо окисляется с переносом двух электронов [38, 39] в диапазоне потенциалов от 0.65 до 0.95 В с образованием на вольтамперограммах хорошо выраженного пика (рис. 3). При модифицировании графитовой пасты энантиоморфными кристаллами БТФМ вольтамперограммы энантиомеров Трп отличаются друг от друга как максимальными токами пиков ($I_{\rm pL}/I_{\rm pD} = 1.14$), так и потенциалами ($\Delta E_{\rm p} = 20$ мВ). Наблюдаемые различия свидетельствуют о том, что свободные энергии взаимодействия L- и D-Трп с энантиоморфными кристаллами БТФМ отличаются друг от друга,

Электрод	<i>R</i> _s , Ом	R _{et} , кОм	N^*	<i>А</i> , мм ²
УПЭ	139.7 ± 4.1	21.0 ± 1.8	0.92 ± 0.01	0.015 ± 0.001
УПЭ/БТФМ	138.7 ± 2.3	15.5 ± 0.6	0.89 ± 0.01	0.017 ± 0.002

Таблица 1. Параметры спектров электрохимического импеданса и активная площадь поверхности УПЭ и УПЭ/БТФМ (n = 5, P = 0.95)

**N* – шероховатость поверхности электрода.

что отражается на максимальных токах и потенциалах пиков их окисления. Стоит отметить, что использование предложенного угольно-пастового электрода позволило получить результаты с высокой воспроизводимостью, относительное стандартное отклонение (s_r) не превышало 3%.

Для установления природы наблюдаемых токов изучили зависимость $\lg i_p = \lg v + \operatorname{const} B$ диапазоне от 10 до 200 мВ/с, где $v - \operatorname{ckopoctb}$ развертки потенциала электрода, и рассчитали критерий Семерано ($\lg i_p/\lg v$). Из рис. 4 видно, что для L-Трп критерий Семерано близок к 0.5, т.е. лимитирующей стадией электродного процесса является диффузия электродактивного вещества к поверхности электрода, тогда как для D-энантиомера электродный процесс в большей степени осложнен его адсорбцией на электроде. Это также свидетельствует о различиях в энергиях взаимодействия энантиомеров Трп с поверхностью модифицированного УПЭ.

Кроме того, что Трп является важной для человека аминокислотой, выбор его в качестве аналита обусловлен более высокими и сильнее различающимися аналитическими сигналами энантиомеров по сравнению с другими электроактивными аминокислотами, например, тирозином (Тир), метионином (Мет) и цистеином, из которых для цистеина пики окисления не наблюдаются (рис. 5а). Можно предположить, что этот факт обусловлен большим размером молекулы триптофана за счет присутствия в ней индольного кольца по сравнению с остальными аминокислотами, что приводит к большим стерическим различиям при взаимодействии L- и D-Трп с энантиоморфными кристаллами БТФМ. Кроме высокой воспроизводимости результатов, предложенный сенсор характеризуется достаточной стабильностью, которую изучали в течение шести дней (рис. 5б).

Токи пиков энантиомеров Трп линейно возрастают с увеличением их концентрации в диапазоне от 10 до 400 мкМ; чувствительность для D-



Рис. 3. Квадратно-волновые вольтамперограммы 0.4 мМ растворов энантиомеров триптофана в фосфатном буферном растворе с рН 6.9 на УПЭ (а) и УПЭ, модифицированном энантиоморфными кристаллами бромтрифенилметана (б); скорость развертки потенциала 20 мВ/с.



Рис. 4. Зависимости логарифма тока пика окисления D- (а) и L-триптофана (б) от логарифма скорости развертки потенциала на УПЭ, модифицированном энантиоморфными кристаллами бромтрифенилметана.



Рис. 5. (а) Электроаналитические характеристики определения энантиомеров аминокислот с использованием УПЭ/БТФМ; (б) значения коэффициента селективности УПЭ/БТФМ в течение 6 дней.

Трп больше, чем для L-Трп, а соотношение токов $I_{\rm pD}/I_{\rm pL}$ равно 1.14 и сохраняется во всем диапазоне изученных концентраций (рис. 6). Разность потенциалов $\Delta E_{\rm p}$ равна 20 мВ. Пределы обнаружения и пределы количественного определения оценивали по 3 σ - и 10 σ -критерию соответственно. Для D-Трп они имеют значения 1.16 и 3.85 мкМ, для L-Трп – 2.09 и 6.98 мкМ соответственно.

Правильность определения энантиомеров Трп с использованием предложенного сенсора оценивали методом введено—найдено (табл. 2). Для этого использовали модельные растворы мочи, плазмы крови, а также растворы фармацевтических препаратов, содержащих L-Трп. Предложенный сенсор обладает высокой воспроизводимостью, относительное стандартное отклонение результатов определения энантиомеров Трп в чистых растворах не превышает 3%, в модельных растворах мочи оно не превышают 5%, а в модельных растворах плазмы крови человека – 7%. Более высокое значение s_r в случае плазмы крови можно объяснить ее более сложным составом, присутствием в ней значительного количества других органических соединений. Для тестирования сенсора на модельных растворах фармацевтических препаратов использовали три препарата L-Трп различных производителей (препараты 1, 2 и 3), содержащие также вспомогательные компоненты (в основном пантотеновую кислоту и пиридоксин). В этом случае значение s_r не превышало 6.2%. Правильность определения во всех случаях была не ниже 96%.

Хотя вольтамперограммы энантиомеров Трп на модифицированном УПЭ отличаются друг от друга и их воспроизводимость высокая, различия между максимальными токами пиков и потенци-



Рис. 6. Квадратно-волновые вольтамперограммы растворов D- (а) и L-триптофана (б) разных концентраций ($1 \rightarrow 7$: 0.01, 0.02, 0.06, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 мМ) на УПЭ, модифицированном энантиоморфными кристаллами бромтрифенилметана; рН 6.9, v = 20 мВ/с, n = 5, P = 0.95.

алами достаточно малы (рис. 3). В связи с этим целесообразно было применить хемометрическую обработку полученных данных, в частности методы МГК и ПЛС-ДА [40, 41]. Следует заметить, что с практической точки зрения задача распознавания энантиомеров Трп независимо от их концентрации является исключительно важной. Ее можно решить хемометрически, если на вольтамперограммах энантиомеров наблюлаются хотя бы небольшие различия потенциалов окисления и максимальных токов пиков при достаточно высокой воспроизводимости результатов измерений. В случае УПЭ/БТФМ оба эти условия выполняются. Для построения МГК-моделей составили матрицу данных, содержащую вольтамперограммы растворов D- и L-Трп различных концентраций: 0.4, 0.3, 0.2 и 0.1 мМ. Заметим, что МГК позволяет визуализировать экспериментальные данные путем преобразования каждой вольтамперограммы в точку и перенесения ее в новую систему координат, так называемых главных компонент (ГК). Расположение точек на плоскостях ГК свидетельствует о схожести и различии анализируемых образцов. Как правило, наиболее значимую информацию несут 3-5 первых ГК. Графики счетов МГК-моделирования, представленные на рис. 7, свидетельствуют о том, что на плоскости ГК1-ГК2 (рис. 7а) наблюдается распределение образцов по концентрации энантиомеров Трп, но не по хиральности аналитов. Это значит, что ГК2 и частично ГК1 характеризуют концентрацию энантиомеров Трп в образцах и соответственно высоту пиков их окисления.

На плоскости ГК1–ГКЗ (рис. 76) наблюдается распределение образцов по хиральности аналитов. Образцы D- и L-Трп независимо от концентрации растворов образуют отдельные кластеры

(облака), причем эти кластеры располагаются в верхней и нижней частях и разделены первой ГК. Это значит, что ГКЗ определяет хиральность аналитов, что, скорее всего, происходит благодаря наличию различий между потенциалами пиков окисления энантиомеров Трп. И, наконец, на плоскости ГК2–ГКЗ (рис. 7в) наблюдается распределение образцов как по хиральности (кластеры энантиомеров Трп разделены второй ГК), так и по концентрации растворов вдоль ГК2.

Следующим этапом хемометрической обработки данных было построение регрессионной модели и прогнозирование (распознавание) энантиомеров Трп. Так как в нашем случае имелись два определяемых вешества – L- и D-Трп. т.е. два класса анализируемых образцов, то целесообразно было использовать метод ПЛС-ДА. ПЛС-модель строили с использованием вольтамперограмм, соответствующих 0.4 мМ растворам D- и L-Трп путем присвоения каждому классу коэффициентов 0 и 1. Таким образом, 0.4 мМ растворы служили образцами сравнения (ОС), а остальные - 0.3, 0.2 и 0.1 мМ растворы - тестовыми образцами (ТО). Полученные результаты представлены в виде доли правильно распознанных образцов и приведены в табл. 3. Кроме растворов Трп с различной концентрацией, в качестве тестовых образцов приготовили также 0.4 мМ растворы фармацевтических препаратов, содержащих L-Трп и вспомогательные компоненты. Из табл. 3 видно, что при распознавании 0.4 и 0.3 мМ растворов энантиомеров Трп наблюдаются минимальные ошибки первого рода – от 6 до 10%. Далее при уменьшении концентрации ошибка распознавания увеличивается вплоть до 44% для 0.1 мМ растворов. При распознавании фармацевтических препаратов L-Трп все образ-

Аналит	Введено, мкМ	Найдено, мкМ	<i>s</i> _r , %	Правильность, %		
Чистые растворы						
D-Трп	80.0	80.1 ± 1.2	2.0	99.8		
	40.0	40.5 ± 0.6	2.0	98.8		
L-Трп	80.0	79.6 ± 1.7	2.9	99.6		
	40.0	40.2 ± 0.3	1.1	98.1		
		Моча		I.		
D-Трп	80.0	81.0 ± 2.8	4.7	98.7		
	40.0	39.1 ± 0.9	3.1	97.7		
L-Трп	80.0	80.5 ± 2.3	4.0	99.4		
	40.0	41.0 ± 0.9	2.9	97.6		
	Плазма крови					
D-Трп	80.0	82.0 ± 3.6	6.0	97.6		
	40.0	41.6 ± 0.8	2.8	96.0		
L-Трп	80.0	80.7 ± 4.0	6.8	99.1		
	40.0	41.0 ± 1.1	3.6	97.6		
		Препарат 1		!		
L-Трп	40.0	40.3 ± 1.8	6.2	99.3		
	80.0	79.8 ± 2.4	4.1	99.7		
		Препарат 2		<u>1</u>		
L-Трп	40.0	39.7 ± 1.5	5.3	99.3		
	80.0	81.5 ± 2.6	4.4	98.1		
Препарат 3						
L-Трп	40.0	40.5 ± 1.7	5.7	98.9		
	80.0	78.6 ± 3.1	5.4	98.3		

Таблица 2. Результаты вольтамперометрического определения энантиомеров триптофана на УПЭ, модифицированном бромтрифенилметаном, в чистых растворах, в моче и плазме крови человека и в препаратах триптофана (pH 6.9, скорость развертки потенциала 20 мВ/с, n = 5, P = 0.95)

Таблица 3. Результаты распознавания энантиомеров триптофана на угольно-пастовом электроде, модифицированном энантиоморфными кристаллами бромтрифенилметана, с использованием метода ПЛС-ДА

Модельные	то	ОС (0.4 мМ растворы)		
растворы	10	D-Трп	L-Трп	
0.4 мМ растворы	D-Трп	0.92*	0.08	
	L-Трп	0.08	0.92	
0.3 мМ растворы	D-Трп	0.94	0.06	
	L-Трп	0.10	0.90	
0.2 мМ растворы	D-Трп	0.93	0.07	
	L-Трп	0.28	0.72	
0.1 мМ растворы	D-Трп	0.79	0.21	
	L-Трп	0.44	0.56	
Препарат 1	L-Трп	0.13	0.87	
Препарат 2	L-Трп	0.11	0.89	
Препарат 3	L-Трп	0.15	0.85	

* Приведены доли распознанных образцов.

цы распознаны как L-Трп с ошибкой менее 15%. С использованием УПЭ, модифицированного энантиоморфными кристаллами БТФМ, и хемометрического метода ПЛС-ДА, можно с высокой вероятностью распознать энантиомеры Трп как в модельных растворах, так и в реальных растворах с различной концентрацией энантиомеров Трп.

* * *

Таким образом, для селективного распознавания и определения энантиомеров триптофана в модельных растворах фармацевтических препаратов, плазмы крови и мочи человека предложен хиральный вольтамперометрический сенсор на основе угольно-пастового электрода, модифицированного энантиоморфными кристаллами бромтрифенилметана, полученными по механизму созревания Виедмы. Предложенный сенсор прост в изготовлении, проявляет высокую воспроизводимость и стабилен во времени. Применение хемометрической обработки данных методами МГК и

2021



Рис. 7. Графики счетов МГК-моделирования квадратно-волновых вольтамперограмм энантиомеров триптофана различных концентраций, полученных на УПЭ/БТФМ и представленных в трех плоскостях ГК: ГК1–ГК2 (а), ГК1–ГК3 (б) и ГК2–ГК3 (в).

ПЛС-ДА при использовании предложенного сенсора позволяет достоверно определять энантиомеры триптофана независимо от их концентрации.

Работа выполнена при поддержке РНФ: грант № 19-73-10079.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. *Тюкавкина Н.А., Бауков Ю.И.* Биоорганическая химия. М.: Дрофа, 2004. 544 с.
- 2. Kaya S.I., Karabulut T.C., Kurbanoglu S., Ozkan S.A. Chemically modified electrodes in electrochemical

- Liu Z., Xu Y., Ji C.Y., Chen S., Li X., Zhang X., Li J. Fano-Enhanced circular dichroism in deformable stereo metasurfaces // Adv. Mater. 2020. V. 32. Article 1907077.
- He Y., He M., Nan K., Cao R., Chen B., Hu B. Magnetic solid-phase extraction using sulfur-containing functional magnetic polymer for high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometric speciation of mercury in environmental samples // J. Chromatogr. A. 2019. V. 1595. P. 19.
- 5. Yang W., Cadwallader K.R., Liu Y., Huang M., Sun B. Characterization of typical potent odorants in raw and

cooked *Toona sinensis* (A. Juss.) M. Roem. by instrumental-sensory analysis techniques // Food Chem. 2019. V. 282. P. 153.

- Zhu G., Kingsford O.J., Yi Yi., Wong K-yin. Review Recent advances in electrochemical chiral recognition // J. Electrochem. Soc. 2019. V. 166. № 6. P. H205.
- 7. *Майстренко В.Н., Евтюгин Г.А., Зильберг Р.А.* Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры. Уфа: Издательство БашГУ, 2018. 240 с.
- 8. *Майстренко В.Н., Сидельников А.В., Зильбере Р.А.* Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры: новые решения // Журн. аналит. химии. 2018. Т. 73. № 1. С. 3. (*Maistrenko V.N., Sidel'nikov A.V., Zil'berg R.A.* Enantioselective voltammetric sensors: New solutions // J. Anal. Chem. 2018. V. 73. № 1. Р. 1.)
- 9. Jaques A., Collet A., Wilen S.H. Enantiomers, Racemates and Resolutions. N.Y.: Wiley, 1981. 447 p.
- Shen B.W., Kim Y., Lee M. Supramolecular chiral 2D materials and emerging functions // Adv. Mater. 2020. V. 32. Article 1905669.
- 11. *Pigot C., Dumur F.* Recent advances of hierarchical and sequential growth of macromolecular organic structures on surface // Materials. 2019. V. 12. Article 662.
- Zilberg R.A., Sidelnikov A.V., Maistrenko V.N., YarkaevaYu.A., Khamitov E.M., Kornilov V.M., Maksutova E.I. A voltammetric sensory system for recognition of propranolol enantiomers based on glassy carbon electrodes modified by polyarylenephthalide composites of melamine and cyanuric acid // Electroanalysis. 2018. V. 30. № 34. P. 619.
- 13. Сидельников А.В., Майстренко В.Н., Зильберг Р.А., Яркаева Ю.А., Хамитов Э.М. Энантиоселективный вольтамперометрический сенсор для распознавания стереоизомеров пропранолола // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72. № 5. С. 486. (Sidel'nikov A.V., Maistrenko V.N., Zil'berg R.A., YarkaevaYu.A., Khamitov E.M. An enantioselective voltammetric sensor for the recognition of propranolol stereoisomers // J. Anal. Chem. 2017. V. 72. № 5. Р. 575.)
- 14. Зильберг Р.А., Майстренко В.Н., Кабирова Л.Р., Гуськов В.Ю., Хамитов Э.М., Дубровский Д.И. Хиральный вольтамперометрический сенсор на основе модифицированного циануровой кислотой пастового электрода для распознавания и определения энантиомеров тирозина // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. С. 80. (Zil'berg R.A., Maistrenko V.N., Kabirova L.R., Gus'kovV.Yu., Khamitov E.M., Dubrovskii D.I. A chiral voltammetric sensor based on a paste electrode modified by cyanuric acid for the recognition and determination of tyrosine enantiomers // J. Anal. Chem. 2020. V. 75. Р. 101.)
- Zilberg R.A., Maistrenko V.N., Zagitova L.R., Guskov V.Y., Dubrovsky D.I. Chiral voltammetric sensor for warfarin enantiomers based on carbon black paste electrode modified by 3,4,9,10-perylenetetracarboxylic acid // J. Electroanal. Chem. 2020. V. 861. Article 113986.
- 16. Яркаева Ю.А., Дубровский Д.И., Зильберг Р.А., Майстренко В.Н., Корнилов В.М. Вольтамперометрический сенсор на основе композита 3,4,9,10-перилентетракарбоновой кислоты для распознавания и определения энантиомеров тирозина // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 12. С. 1108.

(Yarkaeva Yu.A., Dubrovskii D.I., Zil'berg R.A., Maistrenko V.N., Kornilov V.M. A Voltammetric sensor based on a 3,4,9,10-perylenetetracarboxylic acid composite for the recognition and determination of tyrosine enantiomers // J. Anal. Chem. 2020. V. 75. № 12. P. 1537.)

- 17. Майстренко В.Н., Зильберг Р.А. Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры на основе хиральных материалов // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 12. С. 1080. (Maistrenko V.N., Zil'berg R.A. Enantioselectivevoltammetric sensors on the basis of chiral materials // J. Anal. Chem. 2020. V. 75. № 12. Р. 1514.)
- Matsuura T., Koshima H. Introduction to chiral crystallization of achiral organic compounds. Spontaneous generation of chirality // J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev. 2005. V. 6. P. 67.
- 19. Kondepudi D.K., Kaufman R.J., Singh N. Chiral symmetry breaking in sodium chlorate crystallization // Science. 1990. V. 250. № 4983. P. 975.
- Kondepudi D.K., Digits J., Bullock K. Studies in chiral symmetry breaking crystallization I: The effects of stirring and evaporation rates // Chirality. 1995. V. 7. P. 62.
- Kondepudi D.K., Asakura K. Chiral autocatalysis, spontaneous symmetry breaking, and stochastic behavior // Acc. Chem. Res. 2001. V. 34. P. 346.
- 22. *Kondepudi D.K.* Spontaneous generation and propagation of chiral asymmetry // Int. J. Quantum Chem. 2004. V. 98. P. 222.
- Viedma C. Chiral symmetry during crystallization: complete chiral purity induced by nonlinear autocatalysis and recycling // Phys. Rev. Lett. 2005. V. 94. P. 065504.
- Sogutoglu L.-C., Steendam R.R.E., Meekes H., Vlieg E., Rutjes F.P.J.J. T. Viedma ripening: A reliable crystallization method to reach single chirality // Chem. Soc. Rev. 2015. V. 44. P. 6723.
- 25. Kawasaki T., Suzuki K., Hakoda Y., Soai K. Achiral nucleobase cytosine acts as an origin of homochirality of biomolecules in conjunction with asymmetric autocatalysis // Chem. Int. Ed. 2008. V. 47. № 3. P. 496.
- 26. Gus'kov V.Y., Sukhareva D.A., Gainullina Y.Y., Hamitov E.M., Galkin Y.G., Maistrenko V.N. Chiral recognition capabilities of melamine and cyanuric acid supramolecular structures // Supramol. Chem. 2018. V. 30. № 11. P. 940.
- 27. Gus'kov V.Y., Gainullina Y.Y., Musina R.I., Zaripova A.I., Pavlova I.N. The emergence of chirality in cyanuric acid conglomerates by Viedma ripening: Surface characterization, chirality assessment and applications in chromatography // Sep. Sci. Technol. 2020. https://doi.org/10.1080/01496395.2020.1723030
- https://www.ccdc.cam.ac.uk/structures/Search?Ccdcid=910020 (22.03.2021).
- Wang R., Dols T., Lehmann C., Englert U. Charge density of intra- and intermolecular halogen contacts // Z. Anorg. Allg. Chem. 2013. V. 639. P. 1933.
- Dunand A., Gerdil R. X-ray structure and crystal packing analysis of triphenylbromomethane, C₁₉H₁₅Br // Acta Cryst. 1984. V. 40. P. 59.
- Dunand A., Gerdil R. X-ray structure and crystal packing analysis of triphenylchloromethane // Acta Cryst. 1982. V. 38. P. 570.

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 11 2021

- 32. Arkin R., Cowans B., Kahr B. Toward hexaphenylethane: structure and decomposition of crystalline triphenylmethyl iodide // Chem. Mater. 1996. V. 8. P. 1500.
- Engin A.B. Evaluation of tryptophan metabolism in chronic immune activation / Molecular and Integrative Toxicology / Ed. Engin A.B. Berlin: Springer, 2015. P. 121.
- 34. Steinert R.E., Luscombe-Marsh N.D., Little T.J., Standfield S., Otto B., Horowitz M., Feinle-Bisset C. Effect of intraduodenal infusion of L-tryptophan on adlybitum eating, anthropyl or duodenal motility, glycemia, insulinemia, and gut peptide secretion in healthy men // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2014. V. 99. P. 3275.
- 35. Зильберг Р.А., Майстренко В.Н., Яркаева Ю.А., Дубровский Д.И. Энантиоселективная вольтамперометрическая сенсорная система для распознавания D- и L-триптофана на основе стеклоуглеродных электродов, модифицированных композитами полиариленфталида с α-, β- и γ-циклодекстринами // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 12. С. 941 (Zil'berg R.A., Maistrenko V.N., Yarkaeva Yu.A., Dubrovskii D.I. An enantioselective voltammetric sensor system based on glassy carbon electrodes modified by polyarylenephthalide composites with α-, β-, and γ-

cyclodextrins for recognizing D- and L-tryptophans // J. Anal. Chem. 2019. V. 74. № 12. P. 1237.)

- 36. Zagitova L.R., Maistrenko V.N., Yarkaeva Yu.A., Zagitov V.V., Zilberg R.A., Kovyazin P.V., Parfenova L.V. Novel chiral voltammetric sensor for tryptophan enantiomers based on 3-neomenthylindene as recognition element // J. Electroanal. Chem. 2021. V. 880. Article 114939.
- 37. *Bard A.J., Faulkner L.R.* Electrochemical methods. Fundamentals and applications. N.Y.: Wiley, 2004. 833 p.
- Xu J., Wang Q., Xuan C., Xia Q., Lin X., Fu Y. Chiral recognition of tryptophan enantiomers based on β-cyclodextrin-platinum nanoparticles/graphene nanohybrids modified electrode // Electroanalysis. 2016. V. 28. P. 868.
- 39. Xiao Q., Lu S., Huang C., Su W., Zhou S., Sheng J., Huang S. An electrochemical chiral sensor based on amino-functionalized graphene quantum dots/β-cyclodextrin modified glassy carbon electrode for enantioselective detection of tryptophan isomers // J. Iran. Chem. Soc. 2017. V. 14. P. 1957.
- 40. *Pomerantsev A.L.* Chemometrics in Excel. N.Y.: Wiley, 2014.
- Esbensen K.H. Multivariate Analysis in Practice. Oslo: CAMO Process AS, 2001.

В НАУЧНОМ СОВЕТЕ РАН ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

ПРЕМИИ СОВЕТА ЗА 2020 Г.

DOI: 10.31857/S0044450221110062

Научный совет РАН по аналитической химии ежегодно объявляет конкурс на соискание одной премии совета в номинации "За существенный вклад в развитие аналитической химии" и двух молодежных премий за лучшие научные работы в области аналитической химии. В декабре 2020 г. в совет поступило 7 заявок от 8 претендентов на молодежный конкурс. Кандидатов на премию в первой номинации выдвинуто не было. Жюри совета в составе председателя – д. ф.-м. н. М.Н. Филиппова и членов – д. х. н. С.С. Гражулене, д. х. н. С.Н. Штыкова и д. х. н., профессора РАН М.А. Проскурнина, внимательно рассмотрев представленные работы, отметило их высокий vровень в целом. Однако, оценивая работы с точки зрения актуальности и признания уровня научной значимости (публикации в журналах с высоким квартилем и число цитирований), объема проделанной работы (число публикаций по теме), вклада номинанта в разрабатываемую тематику (позиция и роль номинанта в каждой конкретной статье), жюри предложило присудить премии авторам двух работ – к. х. н., доценту кафедры аналитической химии Санкт-Петербургского государственного университета Андрею Юрьевичу Шишову и сотрудникам кафедры аналитической химии МГУ им. М.В. Ломоносова к. х. н. Веронике Владимировне Толмачевой и к. х. н. Марии Владимировне Горбуновой – за совместное исследование. В связи с продолжающейся в 2021 г. пандемией коронавируса бюро совета не собиралось, но всем членам бюро были предоставлены результаты работы жюри для заочного обсуждения. По результатам опроса было принято единогласное решение утвердить предложение жюри.

Премия А.Ю. Шишову присуждена за применение глубоких эвтектических растворителей в качестве эффективных диспергаторов при проведении дисперсионной жидкостной микроэкстракции. Андрей Юрьевич Шишов окончил химический факультет Санкт-Петербургского университета, в 2015 г. защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук на тему "Проточный многокомпонентный анализ биодизельных топлив". Свою дальнейшую работу на кафедре аналитической химии университета он связал с новым направлением в области методов разделения и концентрирования на принципах образования глубоких эвтектических растворителей (ГЭР). внеся много нового в развитие этой тематики. Им была предложена классификация ГЭР – гидрофильные, гидрофобные и квазигидрофобные; разработан новый способ выделения аналитов, основанный на принципах образования эвтектических растворителей, реализованный в аналитических методиках выделения нестероидных противовоспалительных препаратов из биологических жидкостей и пищевых продуктов; предложена идея применения ГЭР в качестве эффективных диспергаторов при проведения дисперсионной жидкостной микроэкстракции. ГЭР на основе тетрабутиламмония бромида и органических кислот сами растворяются в воде и способны растворять в себе неполярные органические соединения, такие как длинноцепочечные спирты и жирные кислоты (например, октанол), которые могут выступать в качестве экстрагентов при выделении неполярных и малополярных соединений. Новый вариант дисперсионной жидкостной микроэкстракции был автоматизирован на принципах проточных методов и использован для выделения хрома(VI) из пищевых продуктов в условиях проточного анализа. В работах А.Ю. Шишова продемонстрирована также возможность применения явления разрушения эвтектических растворителей в качестве нового метода дисперсионной жидкостной микроэкстракции, которая использована в методике определения стероидных гормонов в фармацевтических препаратах.

По результатам исследований автором опубликовано 14 оригинальных работ в высокорейтинговых журналах, 8 из которых с квартилем Q1. Цитирование по данным Scopus – 567, индекс Хирша – 14; по данным РИНЦ – 415 цитирований, индекс Хирша – 12. Его работа поддержана двумя грантами РНФ, фондом Президентских грантов и грантом РФФИ, а в 2020 г. – отмечена медалью РАН для молодых ученых. Артем Юрьевич ведет активную педагогическую деятельность, принимает участие в организации всероссийских и международных мероприятий на базе университета. Под его руководством защищены 3 магистерские диссертации, выполнены 5 выпускных квалификационных работ и более 12 курсовых работ.

К. х. н. Веронике Владимировне Толмачевой и к. х. н. Марии Владимировне Горбуновой молодежная премия совета присуждена за разработку композитов на основе полимеров и наночастиц для концентрирования и определения биологически активных органических соединений.

В.В. Толмачева в 2016 г. защитила кандидатскую диссертацию на тему "Магнитные сорбенты на основе сверхсшитого полистирола: синтез, свойства и аналитическое применение для концентрирования тетрациклинов и сульфаниламидов". М.В. Горбунова получила степень к. х. н. в 2019 г., защитив диссертацию на тему "Наностержни золота и их нанокомпозиты для определения катехоламинов методами спектрофотометрии диффузного отражения". В диссертациях и в последующих работах была показана возможность использования сверхсшитого полистирола и композитов на его основе с магнитными наночастицами для группового сорбционного концентрирования тетрациклинов, сульфаниламидов, катехоламинов и амфениколов. Сверхсшитый полистирол и магнитный сверхсшитый полистирол оказались эффективными сорбентами и для концентрирования нитрофуранов и нитроимидазолов. Композиты наночастиц с полимерами предложены как своеобразные спектрофотометрические реагенты при определении биологически важных соединений: изменение оптических свойств наночастиц в присутствии аналитов обусловливает аналитический сигнал, а полимер служит матрицей, которая позволяет регулировать селективность определения, а также улучшать эксплуатационные характеристики системы.

В.В. Толмачева и М.В. Горбунова являются соавторами 29 статей по теме работы в ведущих аналитических журналах, 8 из которых с квартилем 1. По данным РИНЦ работы В.В. Толмачевой набрали 275 цитирований, инлекс Хирша – 6, а М.В. Горбуной – 64 цитирования, индекс Хирша – 4. Их работы получали финансовую поддержку 4 грантами РФФИ, двумя – РНФ, тремя грантами Президента РФ, были отмечены дипломами оргкомитетов нескольких конференций и международных молодежных научных форумов "Ломоносов" в 2015 и 2016 гг., а также премией им. И.П. Алимарина (2017 и 2019 гг.). М.В. Горбунова в 2018 г. получила стипендию Президента РФ и в 2020 г – стипендию МГУ им. М.В. Ломоносова. Под руководством В.В. Толмачевой и М.В. Горбуновой защищены 31 курсовая и 4 дипломных работы. С 2017 г. они проводят практические и семинарские занятия по аналитической химии для студентов различных факультетов МГУ им. М.В. Ломоносова, а также для студентов химического факультета филиала МГУ в Баку и факультета наук о материалах Совместного университета МГУ-ППИ в Шэньчжэне. В.В. Толмачева читает лекционный курс для студентов химического факультета филиала МГУ в Баку.

Награждение лауреатов молодежных премий совета за 2020 г. состоится на 45-ой Годичной сессии совета, которая пройдет в рамках VI Всероссийского симпозиума "Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии" (Краснодар, пос. Ольгинка, 26 сентября—2 октября 2021 г.).

Научный совет РАН по аналитической химии и редакция "Журнала аналитической химии" поздравляют лауреатов и желают им дальнейших творческих успехов.

И.Н. Киселева

О.А. ШПИГУН (К 75-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ)

DOI: 10.31857/S0044450221110189



В ноябре 2021 г. исполняется 75 лет члену-корреспонденту РАН, доктору химических наук, профессору Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова Олегу Алексеевичу Шпигуну.

О.А. Шпигун родился 16 ноября 1946 г. в Москве, в 1969 г. окончил химический факультет МГУ, с которым с тех пор связана его жизнь. На кафедре аналитической химии он прошел путь от младшего научного сотрудника до профессора (1993 г.), защитив сначала кандидатскую (1974 г.), а затем докторскую диссертацию (1990 г.). В 2006 г. избран членом-корреспондентом РАН.

О.А. Шпигун — крупный ученый в области аналитической химии, автор и соавтор более 540 научных работ, в том числе 10 книг, 20 обзоров, 24 авторских свидетельств и патентов РФ. В начале 1980-х гг. по инициативе академика Ю.А. Золотова Олег Алексеевич Шпигун возгла-

вил новое направление — развитие ионной хроматографии, ставшей основным делом его научной деятельности. За цикл работ "Развитие метода ионной хроматографии, разработка и организация выпуска аппаратуры" ему в составе коллектива ученых присуждена Государственная премия РСФСР в области науки и техники за 1991 г.

Более 30 лет О.А. Шпигун возглавляет лабораторию хроматографии кафедры аналитической химии. Лаборатория является одним из ведущих центров развития ионной хроматографии в мире. За эти годы созданы новые подходы к синтезу анионообменников, в том числе с ковалентно закрепленными гиперразветвленными функциональными группами, а также на основе модифицированных силикагелей. В лаборатории активно развивается направление, связанное с разделением и определением оптических изомеров; ведется поиск новых сепарационных материалов на основе хиральных селекторов. В последние годы лаборатория активно работает над созданием новых сорбентов для хроматографии гидрофильных взаимодействий, а также методик хромато-масс-спектрометрического определения физиологически активных веществ растительного происхождения. Большое внимание в исследованиях лаборатории уделяется прикладным аспектам – разработаны многочисленные методики анализа различных сложных объектов по заказам Роскосмоса, Росатома, Министерства обороны РФ и других государственных структур.

Большое внимание О.А. Шпигун уделяет повышению уровня хроматографического образования студентов и аспирантов, прилагает много усилий для улучшения организации и проведения практических занятий по хроматографическим методам в МГУ. В течение многих лет он читает спецкурс "Хроматография и капиллярный электрофорез в аналитической химии" студентам, а курс "Избранные главы хроматографии" – аспирантам химического факультета МГУ, курс "Хроматографические методы анализа" – бакалаврам и магистрам филиала МГУ в Баку. Неоднократно читал лекции в университетах Японии, Германии, Китая, Кубы. Заслуги О.А. Шпигуна в деле подготовки высококвалифицированных специалистов и развития науки отмечены почетными грамотами Министерства образования и науки Российской Федерации.

Многогранна научно-организационная деятельность О.А. Шпигуна. Он – заместитель председателя Научного совета РАН по аналитической химии, председатель комиссии по хроматографии этого совета, вице-президент ассоциации "Экоаналитика", член редколлегии "Журнала аналитической химии", руководитель секции "Анализ вещества" редколлегии журнала "Заводская лаборатория. Диагностика материалов". Олег Алексеевич входит в состав программных комитетов нескольких серий конференций по аналитической, экологической химии, хроматографии. О.А. Шпигуна отличает широкая эрудиция, умение в доступной форме изложить сложные научные сведения; его доклады на научных всероссийских и международных конференциях неизменно вызывают большой интерес.

Коллеги и многочисленные ученики Олега Алексеевича Шпигуна ценят его знания, эрудицию, внимание и доброжелательность и желают юбиляру крепкого здоровья, творческой активности, успешного выполнения намеченных планов, оптимизма. Редколлегия и редакция "Журнала аналитической химии" присоединяются к этим пожеланиям.

ЮБИЛЕЙ И.В. РЫБАЛЬЧЕНКО

DOI: 10.31857/S0044450221110190



23 ноября 2021 г. — 75 лет ведущему научному сотруднику 27-го Научного центра Министерства обороны России доктору химических наук, профессору Игорю Владимировичу Рыбальченко.

Юбиляр родился 23 ноября 1946 г. в Выборге, окончил в 1965 г. Ленинградское Суворовское училище, а в 1970 г. – Военную академию химической защиты. Основное направление его научной деятельности – разработка биохимических, спектрометрических и хроматографических способов обнаружения и определения высокотоксичных соединений, в том числе подлежащих контролю при выполнении международной Конвенции о запрещении химического оружия. В 1993 г. под его руководством и при непосредственном участии в Военной академии химической зашиты была создана современная химикоаналитическая лаборатория, на базе которой в последующие годы сформировалась научная школа и подготовлен большой отряд химикованалитиков высшей квалификации. Руководимая им лаборатория (ныне в составе 27-го НЦ МО $P\Phi$) в течение 25 лет представляет Российскую Федерацию в международных межлабораторных

профессиональных тестах Организации по запрещению химического оружия (ОЗХО). Тесты эти направлены на формирование сети аккредитованных национальных лабораторий, способных квалифицированно и оперативно выполнять анализы проб сложного состава с целью идентификации в них высокотоксичных веществ, относящихся к компонентам химического оружия. В 2000 г. по результатам серии квалификационных тестов, в которых участвовало более 33 аналитических лабораторий из 30 стран-участниц Конвенции о запрещении химического оружия, российская лаборатория, показав соответствие сложной системе критериев. получила международную аккредитацию ОЗХО, которая удерживается по настоящее время по результатам пройденных ею 34 ежегодных профессиональных тестов. Это послужило укреплению международного авторитета отечественной аналитической химии и российских аналитиков.

И.В. Рыбальченко – признанный на международном уровне специалист в области обнаружения идентификации высокотоксичных веществ. И С 1997 по 2004 гг. он работал в составе временной рабочей группы по аналитическим процедурам Научно-консультативного совета ОЗХО. В 2002 г. прошел курс базовой подготовки комиссии ООН по специализации "химическое оружие". С 2008 по 2014 гг. являлся членом Научно-консультативного совета ОЗХО. Входит в состав постоянной группы экспертов по защите от химического оружия при O3XO (Protection Network), объединяющей 18 ведущих специалистов в этой области из различных стран-участниц Конвенции. С 2002 г. включен в список квалифицированных экспертов по химическому оружию комиссии при Совете Безопасности ООН.

Автор более 200 опубликованных работ, 19 патентов. Является членом Научного совета РАН по аналитической химии. Неоднократно выступал с докладами на годичных сессиях совета и различных российских и международных научных конференциях и симпозиумах. Руководитель официально зарегистрированной действующей военнонаучной школы, объединяющей 5 докторов и 12 кандидатов наук. Член редколлегий "Журнала аналитической химии" и журнала "Вестник войск радиационной, химической и биологической защиты". Имеет медаль "За трудовое отличие", медаль к ордену "За заслуги перед Отечеством" II степени, а также ряд ведомственных наград. Награжден почетным знаком "За заслуги в аналитическом контроле" ассоциации аналитических центров "Аналитика". В 2018 г. совместно с соавторами от кафедры аналитической химии химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова удостоен первой "Премии памяти митропо-

лита Московского и Коломенского Макария по естественным наукам" (РАН и РПЦ).

Друзья и коллеги желают И.В. Рыбальченко новых творческих успехов, здоровья и благополучия. Редколлегия и редакция "Журнала аналитической химии" присоединяются к этим пожеланиям.

80 ЛЕТ ВЛАДИМИРУ ГЕОРГИЕВИЧУ ЗАИКИНУ

DOI: 10.31857/S0044450221110207



В этом году исполняется 80 лет главному научному сотруднику Института нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН (ИНХС) доктору химических наук, профессору Владимиру Георгиевичу Заикину, одному из ведущих ученых в области масс-спектрометрии органических соединений.

В.Г. Заикин родился 12 ноября 1941 г. в г. Мелеуз Башкирской АССР. По окончании средней школы в 1959 г. поступил на химический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, который окончил в 1964 г. Еще будучи студентом, он начал работать лаборантом в Институте химии природных соединений АН СССР (ныне Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН) в только что созданной лаборатории масс-спектрометрии, возглавляемой проф. Н.С. Вульфсоном и ставшей впослед-

ствии всесоюзным центром в области органической масс-спектрометрии.

Научные интересы и достижения В.Г. Заикина неразрывно связаны с развитием органической масс-спектрометрии. Первые его публикации в этой области и кандидатская диссертация, выполненная в аспирантуре Института химии природных соединений, были посвящены изучению фрагментации органических соединений различных классов в условиях ионизации электронами. После защиты кандидатской диссертации с 1969 по 1972 гг. Владимир Георгиевич работал научным сотрудником в Институте геологии и разработки горючих ископаемых. гле занимался массспектрометрическим изотопным анализом каустобиолитов и продолжал исследования в области органической масс-спектрометрии. В 1973 г. он был приглашен в ИНХС для организации масс-спектрометрических исследований. Здесь он работает до сих пор. пройдя путь от младшего научного сотрудника до заведующего лабораторией спектральных исследований (1983 г.) и главного научного сотрудника (в настоящее время).

Одним из наиболее важных направлений работы, легших в основу докторской диссертации и принесших В.Г. Заикину мировую известность, стало изучение стереоизомерных эффектов в массспектрах электронной и химической ионизации различных циклических структур, включая физиологически активные соединения. Не меньшую прикладную ценность представляют и результаты исследования в области химии газофазных ионов, генерируемых из энергоемких углерод- и кремнийсодержащих малых циклов. Результаты этих работ обобщены в монографии "Масс-спектрометрия малых циклов (С, Si, Ge)" (М.:. Наука, 1983), написанной в соавторстве с А.И. Микая и В.М. Вдовиным.

Получивший прекрасное образование как химик-органик, В.Г. Заикин активно ведет масштабную работу по применению различных химических методов для решения задач масс-спектрометрии. Под его руководством разработано большое число вариантов дериватизации соединений различных классов для их определения методоми ГХ/МС и масс-спектрометрии с "мягкими" способами ионизации. Это направление представляет интерес для протеомики, геномики, метаболомики, петролеомики; результаты работ используются в аналитической практике. Накопленный в этой области мировой опыт обобщен в серии обзоров и монографии, написанной совместно с Дж. Халкетом (V. Zaikin, J. Halket. "A Handbook of Derivatives for Mass Spectrometry", Chichester). Число ссылок на наиболее цитируемый обзор превышает 150, а суммарное цитирование – 400 ссылок (Web of Science).

Другое направление в рамках использования химических подходов В.Г. Заикин развивал совместно с А.И. Микая. Была сформулирована общая методология комбинированных способов реакционной и пиролитической хромато-массспектрометрии, экспериментальная реализация которой позволила распространить область применения метода на низколетучие и нелетучие органические и высокомолекулярные молекулы, увеличить его информативность. Предложенные принципы были положены в основу ряда эффективных, экспрессных и экономичных методик определения структуры веществ в смесях, использованы при изучении химии газообразных ионов, микромониторинга каталитических систем в разнообразных газо-твердофазных реакциях, нашедших применение при разработке способов получения альтернативных топлив. Результаты собственных исследований и мировой опыт, накопленный в области применения дериватизации в масс-спектрометрии, были рассмотрены в монографии "Химические методы в масс-спектрометрии органических соединений" (М.: Наука, 1987), подготовленной совместно с А.И. Микая.

Большое внимание В.Г. Заикин уделяет разработке спектральных методов исследования высокомолекулярных соединений, в частности, под его руководством создан ряд методик на базе пиролитической хромато-масс-спектрометрии и колебательной спектроскопии для установления элементов микроструктуры и исследования физико-химических свойств полимеров. Появление масс-спектрометрии МАЛДИ позволило перейти на новый уровень работ в области исследования ВМС и разработать способы изучения этим методом трудно ионизируемых олигомерных соединений, а также повышения информативности получаемых данных. Возможности и перспективы использования различных вариантов масс-спектрометрии в химии полимеров рассмотрены в монографии "Масс-спектрометрия синтетических полимеров" (М.: ВМСО, 2009).

Очень важный вклад внес Владимир Георгиевич в развитие масс-спектральной базы данных NIST/EPA/NIH. В ходе начавшегося в 1993 г. сотрудничества с Национальным институтом стандартов и технологии (НИСТ, США) В.Г. Заикин провел систематические широкомасштабные исследования по оценке, расширению и улучшению этой базы данных, которая используется в научных лабораториях всего мира для надежной автоматической идентификации органических соединений природного и синтетического происхождения. Благодаря, в том числе, усилиям В.Г. Заикина и его коллег, масс-спектральная библиотека НИСТ является самой высококачественной и популярной и ею снабжаются все производимые в мире масс-спектрометры. Полученные под руководством Владимира Георгиевича масс-спектры составляют более 10% всех присутствующих в базе данных. Под руководством В.Г. Заикина защищены 1 докторская и 9 кандидатских диссертаций, выполнен ряд дипломных работ. Опубликованные им монографии "Масс-спектрометрия органических соединений" (М.: Химия, 1986), написанная в соавторстве с Н.С. Вульфсоном и А.И. Микая, и "Основы масс-спектрометрии органических соединений" (М.: Наука/Интерпериодика, 2001), подготовленная совместно с А.В. Варламовым, А.И. Микая и Н.С. Простаковым, долгие годы служат учебными, методическими и справочными пособиями для студентов, аспирантов, научных работников. За весь период научной деятельности юбиляром опубликовано около 300 научных работ, в том числе 7 монографий и 9 авторских свидетельств на изобретения.

Более 25 лет В.Г. Заикин занимал должность заведующего лабораторией спектральных исследований ИНХС. Он является главным редактором журнала "Масс-спектрометрия" и исполнительным редактіором международного журнала "European Journal of Mass Spectrometry". Принимал самое активное участие в создании Российского масс-спектрометрического общества, президентом которого был в 2008–2009 гг. Он является почетным членом этого общества, а также членом Американского масс-спектрометрического общества.

Друзья и коллеги, а также редколлегия и редакция "Журнала аналитической химии" поздравляют Владимира Георгиевича с юбилеем и желают ему крепкого здоровья, благополучия и новых творческих успехов.