

СОДЕРЖАНИЕ

Том 76, номер 10, 2021

Работы по методам разделения и концентрирования (продолжение).

Редакторы-составители: В.П. Колотов, З.А. Темердашев, Г.И. Цизин

ОБЗОРЫ

- Ионные жидкости в процессах электрофоретического разделения и концентрирования
Е. А. Бессонова, Л. А. Карцова, Д. О. Москвичев 867
- Пассивные сорберы на основе углеродных материалов и их сравнение для оценки нефтегазоносности пород
А. В. Пирогов, Е. С. Маркова, В. Ю. Ананьев 876
- Определение органических соединений в водно-органических и дисперсных средах с помощью электрохимических методов анализа
Г. А. Евтюгин, А. В. Порфирьева 890

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Сравнительное изучение схем фракционирования форм редкоземельных элементов в почвах в режиме динамического экстрагирования
Ю. Н. Шатрова, Р. Х. Дженлода, Н. Н. Федюнина, В. К. Карандашев, П. С. Федотов 906
- Сорбенты на основе диоксида титана для гидрофильной хроматографии
А. С. Попов, Е. А. Царенко, А. В. Чернобровкина 916
- Одновременное определение гидразина, метилгидразина и 1,1-диметилгидразина в водах методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием с применением катализа для получения производных
Ю. В. Тимченко, А. В. Апенкина, А. Д. Смоленков, А. В. Пирогов, О. А. Шпигун 927

ОБЗОРЫ

- Сферы применения биоаналитической хромато-масс-спектрометрии
Е. И. Савельева 937

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Использование смартфона для определения тетрациклинов в воде и молоке по сенсibilизированной твердофазной флуоресценции европия на его гидроксиде
В. Г. Амелин, З. А. Ч. Шаока, Д. С. Большаков 952

ХРОНИКА

- Профессору Т. Ю. Русановой – 50 лет 959
-
-

УДК 543.545

ИОННЫЕ ЖИДКОСТИ В ПРОЦЕССАХ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ И КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ

© 2021 г. Е. А. Бессонова^а *, Л. А. Карцова^а, Д. О. Москвичев^а

^аСанкт-Петербургский государственный университет

Университетский просп., 26, Петродворец, Санкт-Петербург, 198504 Россия

*e-mail: lena_pol@inbox.ru

Поступила в редакцию 07.04.2021 г.

После доработки 22.04.2021 г.

Принята к публикации 22.04.2021 г.

Ионные жидкости (ИЖ) находят широкое применение в методах разделения, таких как хроматография и капиллярный электрофорез, благодаря своим уникальным свойствам. В обзоре обсуждаются перспективы применения ИЖ на основе имидазола в качестве модификаторов электрофоретической системы в капиллярном зонном электрофорезе, мицеллярной и микроэмульсионной электрокинетической хроматографии при определении биологически активных веществ (аминокислоты, катехоламины, стероидные гормоны, полифенольные антиоксиданты). Рассмотрены новые подходы к селективному электрофоретическому определению и эффективному онлайн-концентрированию аналитов с участием имидазолиевых ИЖ; примеры применения разработанных подходов для анализа природных объектов (моча, плазма, экстракты растений).

Ключевые слова: капиллярных электрофорез, электрокинетическая хроматография, ионные жидкости, аминокислоты, биогенные амины, стероиды, полифенолы.

DOI: 10.31857/S0044450221100030

Ионные жидкости (ИЖ) представляют собой обширный класс органических солей со слабо координированными ионами, имеющие температуру плавления ниже 100°C. Есть соли, которые существуют в жидком состоянии при комнатной температуре или ниже; их называют “room temperature – ionic liquids” (RTILs). Ионные жидкости состоят из объемного органического катиона и органического или неорганического аниона (рис. 1) [1].

Изменение катионно-анионного состава влияет на гидрофобность, вязкость, протонные–апротонные свойства ИЖ. Ионные жидкости находят широкое применение в капиллярном электрофорезе [2–6] благодаря своим уникальным физико-химическими свойствам [1, 7]. Возможные взаимодействия (гидрофобные, ион-дипольные, π – π -взаимодействия, образование водородных связей) ИЖ с аналитами влияют на их эффективность и селективность разделения. Кроме того, ИЖ относят к “зеленым” растворителям: они нетоксичны, характеризуются низким давлением насыщенных паров, минимально загрязняют окружающую среду [1].

Первоначально ИЖ использовали в качестве модификаторов в составе фонового электролита [8, 9]. Позднее было показано, что они могут вы-

полнять самые разные функции в условиях капиллярного электрофореза (КЭ): блокировать силанольные гидроксильные группы на стенках кварцевого капилляра, предотвращая сорбцию основных аналитов; динамически или ковалентно модифицировать стенки кварцевого капилляра [10–13]; выступать в качестве ион-парного агента; создавать хромофорный фон, позволяя обнаруживать непоглощающие в УФ-области спектра соединения в условиях косвенного детектирования; участвовать в формировании псевдостационарной фазы (мицеллярной или микроэмульсионной), обеспечивая разделение нейтральных аналитов, а также в процессах онлайн-концентрирования определяемых веществ [6, 14–16]; выполнять роль хирального селектора при разделении энантиомеров [17–19]. Наибольшее применение в методах разделения получили ИЖ на основе имидазолия [6].

Динамическая модификация капилляра. Особый интерес представляют ИЖ, содержащие большой алкильный радикал. Введение ИЖ на основе имидазола в состав фонового электролита в условиях КЭ приводит к динамической модификации стенок кварцевого капилляра, а при определенных концентрациях (выше критической концентрации мицеллообразования, ККМ) ионные жидкости, подобно поверхностно-актив-

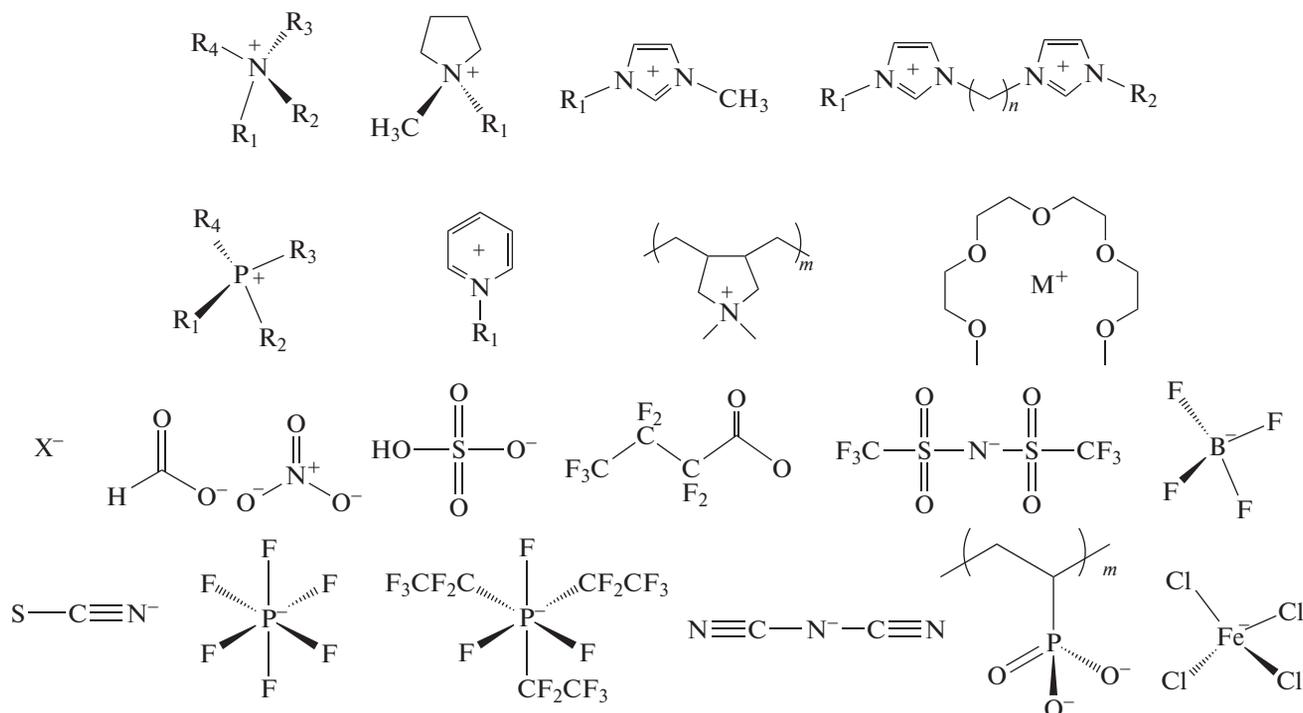


Рис. 1. Структуры типичных катионов и анионов, используемых в протонных, апротонных, дикатионных, полимерных и магнитных ионных жидкостях. *Катионы* (верхний ряд, слева направо): замещенный аммоний, пирролидиний, 1-метил-3-алкилимидазолий, 1,3-бис[3-метилимидазолий-1-ил]-алкан; (второй ряд) фосфоний, пиридиний, поли(диаллилдиметиламмоний), металлический (M^+) тетраглим. *Анионы* (третий ряд): галогениды, формиат, нитрат, гидросульфат, гептафторбутират, бис(пентафторметилсульфанил)имид, тетрафторборат; (нижний ряд) тиоцианат, гексафторфосфат, трис(пентафторэтил)трифторфосфат, дицианамид, поли(фосфоновая кислота), тетра-хлорферрат [1].

ным веществам (**ПАВ**), способны образовывать мицеллы [10, 11, 16]. Все это открывает новые возможности для регулирования эффективности и селективности разделения аналитов различной природы [6].

Исследовано влияние ионных жидкостей $C_{12}MImCl$ и $C_{16}MImCl$ на электрофоретические параметры миграции гидрофильных аналитов (биогенные амины адреналин, норадреналин, норметанефрин и дофамин, аминокислоты), а также гидрофобных аналитов (стероидные гормоны кортизол, кортизон, кортикостерон, 11-дезоксикортизол, 11-дезоксикортикостерон) при разных значениях рН (2.0, 9.3) фонового электролита [20–22]. Указанные соединения представляют собой биологически активные вещества, играющие важную роль при диагностике заболеваний нервной, сердечно-сосудистой и эндокринной систем.

В случае катехоламинов и аминокислот (ионногенные аналиты) реализован режим зонного капиллярного электрофореза (**КЗЭ**). Аминокислоты и катехоламины при рН фонового электролита ниже 7 заряжены положительно и в условиях КЗЭ мигрируют в направлении катода за счет соб-

ственных электрофоретических подвижностей. При введении ионной жидкости в состав фонового электролита в концентрации, меньшей чем ККМ (<12.15 мМ) происходит динамическая модификация стенок кварцевого капилляра, электроосмотический поток (**ЭОП**) обращается и увеличивается эффективность как в случае электрофоретического определения аминокислот, так и катехоламинов в 2–3 раза за счет предотвращения сорбции основных аналитов (табл. 1).

Ионные жидкости – модификаторы мицелл и микроэмульсий. Стероидные гормоны являются нейтральными и гидрофобными соединениями и могут быть определены лишь в режиме мицеллярной (**МЭКХ**) или микроэмульсионной электрокинетической хроматографии (**МЭЭКХ**). В этом случае ионная жидкость должна выполнять роль либо агента, образующего мицеллы или микроэмульсию (концентрация превышает ККМ), либо модификатора псевдостационарной фазы (**ПСФ**), образованной другим детергентом. Нами в условиях МЭКХ и МЭЭКХ исследованы оба варианта при разделении кортикостероидов [23, 24].

Ионные жидкости в мицеллярной электрокинетической хроматографии. При концентрации ИЖ, превышающей значение ККМ, реализуется

Таблица 1. Условия электрофоретического разделения и пределы обнаружения катехоламинов, аминокислот и стероидов без добавки и с добавкой ионной жидкости в фоновый электролит

Условия КЭ		Катехоламины	Стероидные гормоны
Без введения ионной жидкости	Фоновый электролит	50 мМ ацетатно-аммонийный буферный раствор (рН 4.0)	25 мМ фосфатный буферный раствор (рН 2.5), 25 мМ ДДСН*, 5 М мочевины
	Эффективность тыс. т.т. ПО**	75–80 3–4 мкг/мл	200–230 5 мкг/мл
С введением ионной жидкости	Фоновый электролит	50 мМ ацетатно-аммонийный буферный раствор (рН 4.0), 0.5 мМ C ₁₆ MImCl	25 мМ ацетатно-аммиачный буферный раствор (рН 4.0), 15 мМ C ₁₆ MImCl, 12 мМ ГП-β-ЦД***
	Эффективность тыс. т.т. ПО	210–410 1–2 мкг/мл	250–750 2 мкг/мл

* Додецилсульфат натрия, ** предел обнаружения, *** 2-гидроксипропил-β-циклодекстрин.

режим мицеллярной электрокинетической хроматографии. В этом случае селективность разделения аминокислот и катехоламинов увеличивается. Рост факторов селективности связан с реализуемыми взаимодействиями аналитов с псевдостационарной фазой — гидрофобной внутренней полостью сформированной мицеллы и π–π-взаимодействиями с имидазольным кольцом. Селективное разделение стероидных гормонов с применением ИЖ в качестве мицелл удалось осуществить путем добавления 2-гидроксипропил-β-циклодекстрина в фоновый электролит [23]. Он может образовывать комплексы включения с аналитами, что определяется главным образом стерическими факторами, гидрофобными взаимодействиями, возможным образованием водородных связей и эффектами сольватации. Полученные результаты сопоставлены с влиянием традиционно используемого катионного детергента — цетилтриметиламмоний бромида и показано, что применение ИЖ обеспечивает более высокие значения эффективностей.

Таким образом, введение ИЖ в состав фонового электролита позволило снизить пределы обнаружения (ПО) при разделении стероидов, катехоламинов и аминокислот, однако чувствительность метода КЭ оказалось недостаточной для определения этих аналитов в реальных объектах, поскольку содержания катехоламинов и свободных кортикостероидов в биологических жидкостях находятся на уровне нг/мл. Именно поэтому требовалось выявить возможности различных вариантов онлайн-концентрирования с участием ИЖ (стэкинг с усилением поля, стэкинг с усилением поля с водной пробкой, динамический рН-скачок, свипинг и др.) и/или, в случае необходимости, предложить новые способы.

Ионные жидкости в процессах онлайн-концентрирования в мицеллярной электрокинетической хроматографии. Сочетание процессов онлайн-

концентрирования с применением в составе фонового электролита веществ, способных блокировать силанольные группы кварцевого капилляра и тем самым устранять или снижать сорбцию определяемых соединений, может сопровождаться ростом эффективности и селективности разделения, а также снижением пределов обнаружения до значений, достаточных для определения следовых количеств диагностически важных аналитов в биологических жидкостях.

Проведен поиск условий электрофоретического онлайн-концентрирования катехоламинов и стероидных гормонов в МЭКХ с участием ИЖ C₁₂MImCl и C₁₆MImCl (стэкинг с усилением поля, стэкинг с введением водной пробки, свипинг); установлены факторы, влияющие на процесс онлайн-концентрирования аналитов: время ввода и состав раствора пробы (вода, органический растворитель, добавки циклодекстринов, ИЖ, додецилсульфата натрия (ДДСН)), концентрация и природа фонового электролита [23, 25].

Выявлены возможности интересного варианта свипинга с высокопроводящей матрицей пробы с участием ионной жидкости C₁₆MimCl (рис. 2а) [23, 25]. Установлено, что использование высокопроводящей матрицы пробы и введение ИЖ C₁₆MImCl в состав фонового электролита приводит к значительному росту эффективности до $\sim 1 \times 10^6$ т.т., что обеспечило снижение ПО катехоламинов до 50 нг/мл, стероидов — до 25–100 нг/мл и возможность их определения в реальных объектах. Факторы концентрирования составили 40–48 для стероидов и 83–112 для катехоламинов. Метод основан на предварительном концентрировании псевдостационарной фазы (мицелл ИЖ и ДДСН) на границе с высокопроводящей зоной пробы, что обеспечивает увеличение эффективности процесса свипинга с участием ИЖ (рис. 2б). Показано, что эффективность свипинга в значительной степени

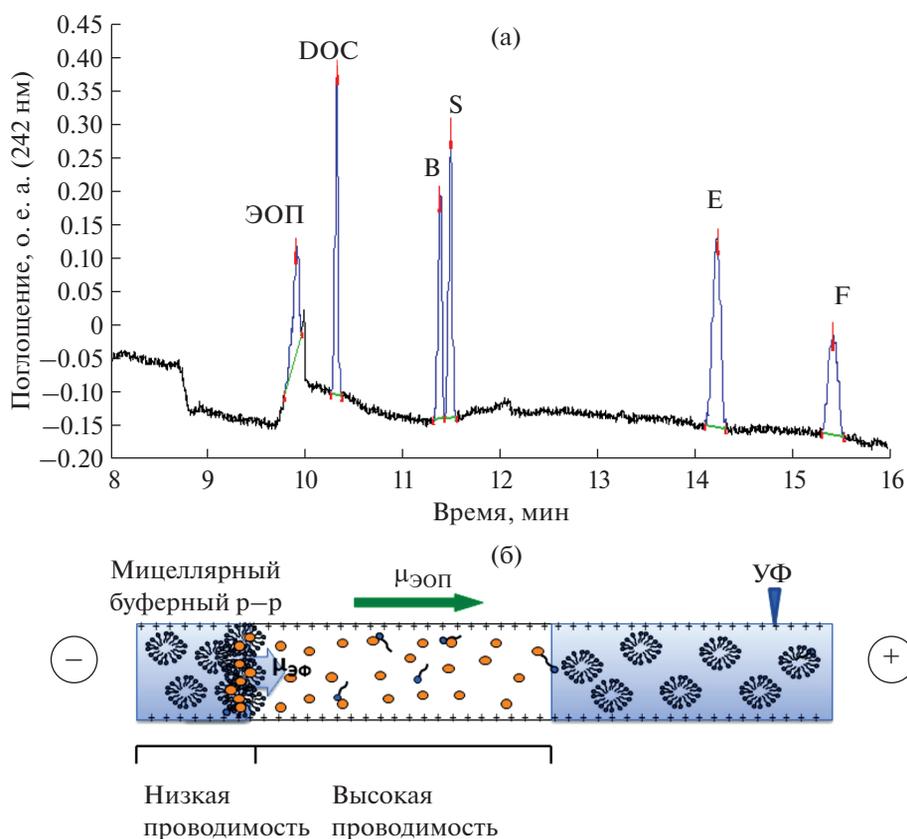


Рис. 2. (а) Электрофореграмма стероидных гормонов (0.5 мкг/мл) (МЭКХ; $C_{16}MImCl$ в составе фонового электролита). Условия: прибор “Капель-105”; ввод пробы: 100×30 мбар; фоновый электролит: 25 мМ ацетатный буферный раствор (рН 4.0), 25 мМ ДДСН, 0.5 мМ $C_{16}MImCl$, 15% CH_3OH . Раствор пробы: 60 мМ ацетатный буферный раствор (рН 4.0). Капиллярный электрофорез: -20 кВ, 242 нм. (б) Схема механизма концентрирования стероидных гормонов в условиях свипинга с высокопроводящей матрицей пробы [23]. Стероидные гормоны: кортизол (F), кортизон (E), 11-дезоксикортизон (S), 11-дезоксикортикостерон (ДОС), 11-дегидрокортикостерон (В).

зависит от концентрации буфера в растворе образца. В случае катехоламинов ИЖ $C_{16}MImCl$ выполняла роль мицеллообразующего агента, при разделении стероидов ИЖ использовались как модификаторы мицелл, образованных ДДСН. Выбранный электрофоретический режим реализован при анализе мочи и сыворотки крови.

Биогенные амины и стероидные гормоны в моче и крови находятся в двух формах: свободной и связанной. Биологической активностью обладает только свободная фракция, поэтому гидролиз конъюгатов не проводили.

Предложена [23] схема электрофоретического определения (МЭКХ) стероидных гормонов в реальных объектах (моча) с введением ионной жидкости $C_{16}MImCl$ в фоновый электролит (25 мМ ацетатно-аммиачный буферный раствор, 25 мМ ДДСН и 15 об. % метанола) и внутрикапиллярным онлайн-концентрированием. Пробоподготовка включала жидкостную экстракцию аналитов с использованием хлороформа в случае мочи и дихлорметана в случае сыворотки крови. Сте-

пень извлечения стероидов составила 89–95.1%, ПО – 3–5 нг/мл, что достаточно для определения эндо- и экзогенных стероидных гормонов в биологических жидкостях (рис. 3).

Разработана схема электрофоретического определения катехоламинов в образцах мочи с участием ИЖ $C_{16}MImCl$ в составе фонового электролита и применением предложенного варианта онлайн-концентрирования [25]. Подготовку образцов мочи для определения катехоламинов проводили методом твердофазной экстракции на активированном оксиде алюминия по схеме, описанной в работе [26]. Степени извлечения составили 85–90%. На рис. 3б представлена электрофореграмма образца экстракта мочи в найденных условиях. Воспроизводимость результатов (s_r) 2.7–4.2%.

Таким образом, введение ИЖ в фоновый электролит обеспечило значительное увеличение эффективности и снижение ПО стероидов и катехоламинов. Применение разработанной схемы онлайн-концентрирования с участием ИЖ $C_{16}MImCl$ и

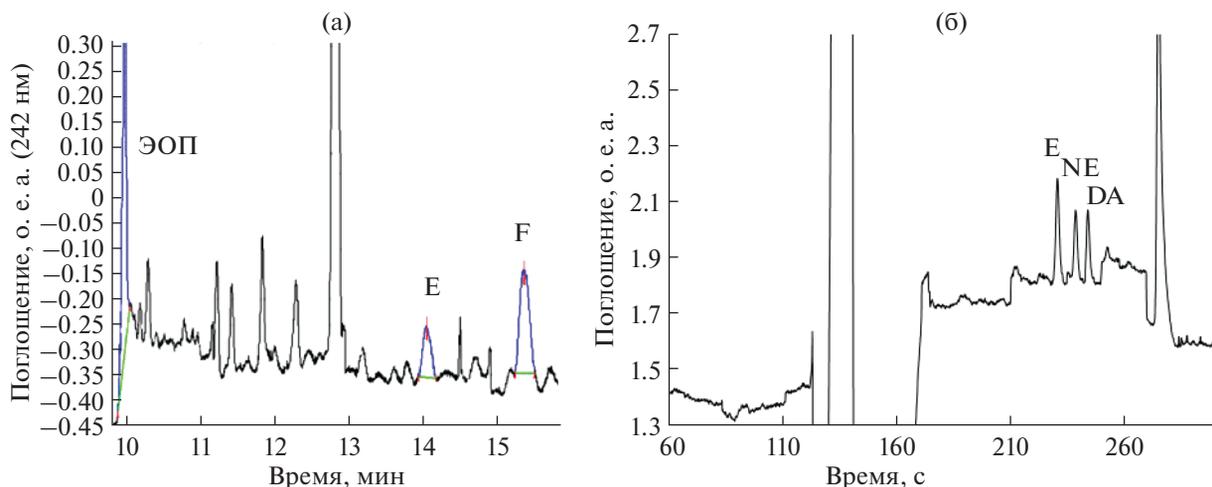


Рис. 3. Электрофореграмма (а) стероидных гормонов в образце мочи (МЭКХ с онлайн-концентрированием) (а); катехоламинов в образце мочи (МЭКХ, свипинг с высокопроводящей матрицей пробы). Условия МЭКХ: (а) фоновый электролит 25 мМ ацетатный буферный раствор (рН 4.0), 25 мМ ДДСН, 0.5 мМ $C_{16}MImCl$, 15% CH_3OH . Раствор пробы: 60 мМ ацетатный буферный раствор (рН 4.0). Ввод пробы: 100×30 мбар. (б) Фоновый электролит 10 мМ ацетат аммония, 150 мМ муравьиная кислота (рН 4.0), 0.5 мМ $C_{16}MImCl$. Раствор пробы: 60 мМ ацетат аммония, 150 мМ муравьиная кислота (рН 4.0). Ввод пробы: 30×50 мбар [23, 25]. Катехоламины: адреналин (E), норадреналин (NE), дофамин (DA).

предварительной пробоподготовки образцов мочи и сыворотки крови позволяет определять катехоламины и стероидные гормоны в реальных объектах методом МЭКХ с высокими чувствительностью и воспроизводимостью.

Ионные жидкости в микроэмульсионной электрокинетической хроматографии. В последние годы при разделении сложных смесей гидрофобных аналитов особое внимание уделяется методу МЭЭКХ, где фоновым электролитом является микроэмульсия [27–37]. К достоинствам метода МЭЭКХ следует отнести возможность одновременного разделения заряженных и нейтральных, гидрофобных и гидрофильных аналитов и высокие коэффициенты распределения исследуемых веществ. В методе МЭЭКХ нейтральные аналиты способны распределяться между каплями “масла” и водной фазой в соответствии с их гидрофобностью [34, 37]. Различные по природе соединения могут быть разделены за счет возможности варьирования широкого набора параметров: концентрации и природы ПАВ [28], “масла” [29], вспомогательного ПАВ (со-ПАВ) [30], различных добавок в фоновый электролит [31, 32], рН и природы буферного раствора [33].

Значительные перспективы открываются и при использовании ИЖ в составе микроэмульсии в МЭЭКХ [38–40]. Ионная жидкость, в зависимости от длины алкильного радикала и природы аниона, может выступать в роли любого из трех компонентов микроэмульсии.

Выявлены перспективы применения гидрофильных ионных жидкостей на основе имидазола

($C_{12}MImCl$, $C_{16}MImCl$) в качестве модификаторов и ПАВ, а также гидрофобных ИЖ (C_6MImBF_4) в качестве “масла” в составе микроэмульсии при разделении стероидных гормонов методом МЭЭКХ [24].

Определен ряд факторов (концентрация ИЖ, природа и значение рН фонового электролита, соотношение различных компонентов микроэмульсии), влияющих на эффективность и селективность разделения аналитов. Найдены подходящие условия для полного разделения модельной смеси стероидных гормонов: кортизола (F), кортизона (E), 11-дезоксикортизола (S), 11-дезоксикортикостерона (DOC), 11-дегидрокортикостерона (B). Сопоставлены аналитические характеристики методов МЭКХ и МЭЭКХ при определении стероидов.

Введение в состав микроэмульсии 2-гидрокси-пропил- β -циклодекстрина (ГП- β -ЦД) (15 мМ) существенно влияет на селективность разделения (рис. 4). Этот макроцикл способен формировать с молекулами стероидов комплексы по типу “гость-хозяин” [41]. Образование комплекса включения ГП- β -ЦД с кортикостероидами обеспечило полное разделение аналитов, при этом эффективность возросла до 900 тыс. т и снизилась продолжительность анализа до 7 мин. Следует отметить, что происходит изменение порядка миграции стероидных гормонов. В присутствии ГП- β -ЦД лучшие результаты получены при более низком содержании ИЖ.

Применение методов онлайн-концентрирования (электрострэкинг и свипинг) позволило снизить пределы обнаружения аналитов до 50 нг/мл,

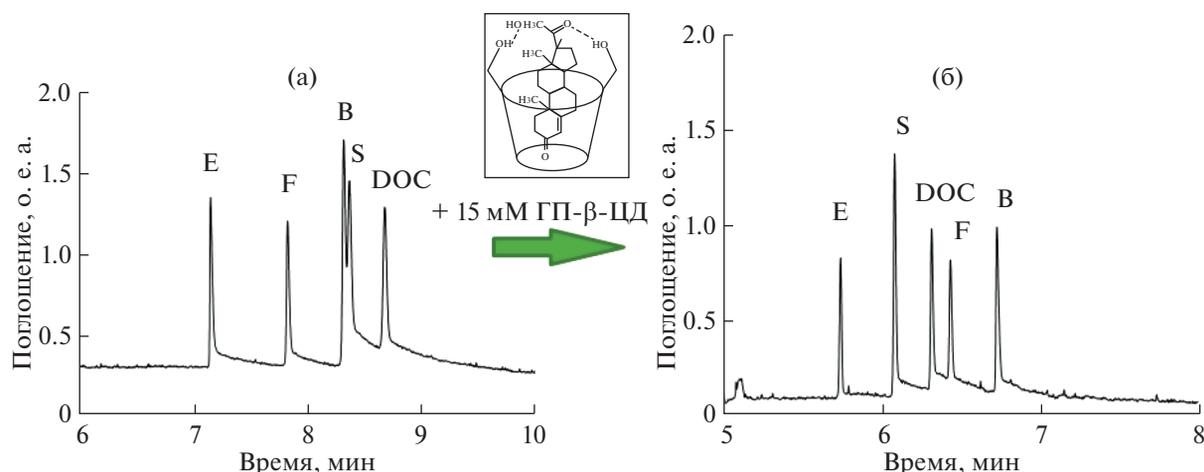


Рис. 4. Влияние 2-гидроксипропил- β -циклодекстрина на разделение стероидных гормонов с использованием ионной жидкости $C_{16}MImCl$. Условия: фоновый электролит: 0.8% $C_{16}MImCl$, 0.5% этилацетата, 1.2% бутанола-1, 97.7% 5 мМ фосфатного буферного раствора, pH 7 (а); 0.8% $C_{16}MImCl$, 0.5% этилацетата, 1.2% бутанола-1, 97.7% 15 мМ ГП- β -ЦД, 5 мМ фосфатный буферный раствор, pH 7. Напряжение: -20 кВ. Ввод пробы: 2 с, 3 кПа [24].

что достаточно для их обнаружения в образцах мочи. На основании полученных результатов предложен экспрессный способ определения стероидных гормонов в образцах мочи и сыворотки крови методом МЭЭКХ с введением имидазольевой ионной жидкости в состав фонового электролита.

Использование ионной жидкости C_6MImBF_4 в качестве масла позволило разделить смесь стероидов при варьировании содержания C_6MImBF_4 в диапазоне 0.3–1 мас. %. Оптимальное содержание ИЖ составило 0.7%.

Сопоставлены аналитические характеристики методов МЭКХ и МЭЭКХ с участием ИЖ и традиционно используемого ПАВ цетилтриметиламмоний бромида при разделении стероидных гормонов (табл. 2) [24]. Все варианты обеспечивают достаточно селективное разделение аналитов, однако введение ИЖ приводит к значительному росту эффективности.

Исследованы возможности применения гидрофильной ИЖ на основе имидазола ($C_{16}MImCl$) в качестве ПАВ и гидрофобных ИЖ (C_6MImBF_4 ,

$C_6MImN(SO_2CF_3)_2$) в качестве “масла” в составе микроэмульсии при разделении полярных аналитов, таких как полифенольные антиоксиданты, методом МЭЭКХ [42]. Показано, что введение ИЖ в состав микроэмульсии в качестве ПАВ, так и масла приводит к значительному росту эффективности (200–650 тыс. т. т.). Установлено, что применение гидрофобных ИЖ (C_6MImBF_4 , $C_6MImN(SO_2CF_3)_2$) обеспечивает большие чувствительность и селективность разделения полифенолов по сравнению с гидрофильной ИЖ ($C_{16}MImCl$) в МЭЭКХ. Состав микроэмульсии (мас. %) для селективного разделения катехинов с применением ИЖ в качестве “масла”: 0.6 ДДСН, 0.7 C_6MImBF_4 , 1.6 бутанола-1, фосфатный буферный раствор с pH 7 (рис. 5). Достигнуты пределы обнаружения на уровне нг/мл. Выбранные условия МЭЭКХ использованы для определения полифенолов в образцах зеленого чая (рис. 5).

Таким образом, применение ИЖ $C_{16}MImCl$ и C_6MImBF_4 в методе МЭЭКХ приводит к увеличению эффективности и сокращению продолжи-

Таблица 2. Сравнение аналитических характеристик методов мицеллярной и микроэмульсионной электрокинетической хроматографии при разделении стероидных гормонов

Параметр	МЭКХ с $C_{16}MImCl$	МЭЭКХ с $C_{16}MImCl$	МЭКХ с ЦТАБ	МЭЭКХ с ЦТАБ
Эффективность, т. т.	400000–610000	630000–820000	350000–500000	300000–400000
Предел обнаружения, нг/мл	25–100	25–100	50–120	50–120
Продолжительность анализа, мин	15	7	15	7
$c_{мин}$, %	1.3–1.5	0.8	0.5	0.8

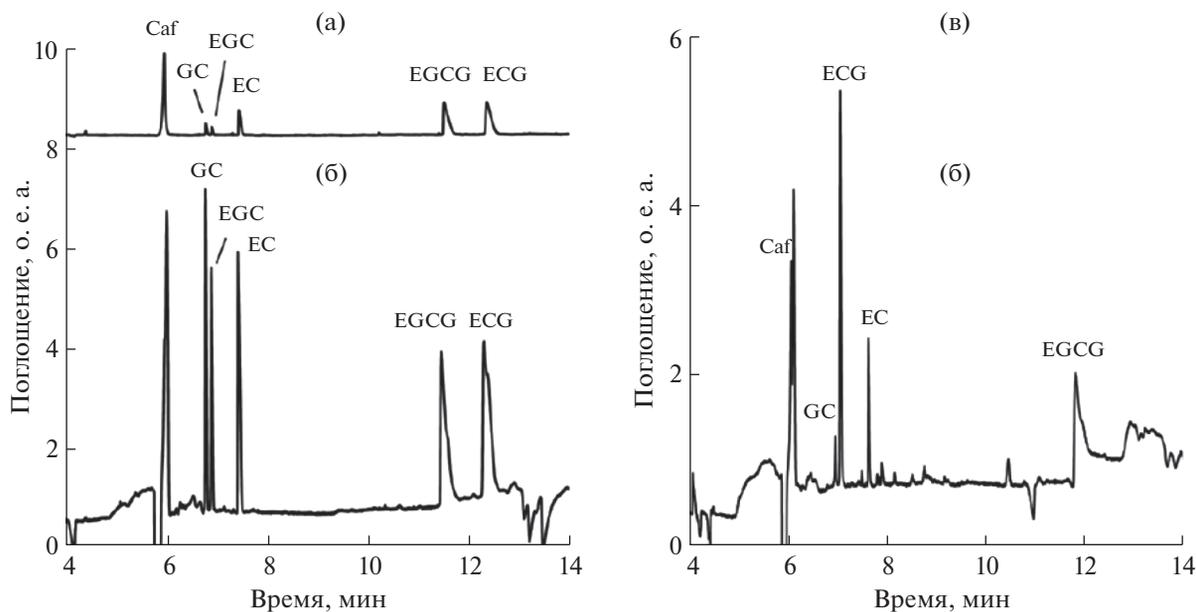


Рис. 5. Электрофореграммы разделения катехинов и кофеина в модельных смесях (а), и в экстракте зеленого чая (метод МЭЭКХ; C_6MImBF_4 в составе микроэмульсии в качестве масла) (б). Условия: 0.6% (w/v) ДДСН, 0.7% (w/v) C_6MImBF_4 , 1.6% (w/v) бутанола-1, фосфатный буферный раствор, рН 7, (а) – 280 нм; (б), (в) – 200 нм. Напряжение: 20 кВ. Ввод пробы: 15 с, 30 мбар [42]. Аналиты: эпикатехин (ЕС), галлокатехин (GC), эпигаллокатехин галлат (EGCG), эпикатехин галлат (EGC), кофеин (Caf).

тельности анализа по сравнению с ДДСН и гептаном при разделении катехинов. Состав микроэмульсии (мас. %) 0.8 ДДСН, 0.7 C_6MImBF_4 , 1.6 бутанола-1, фосфатный буферный раствор с рН 7 подходит для селективного разделения как гидрофобных, так и гидрофильных соединений.

* * *

Ионные жидкости на основе имидазола в составе фонового электролита могут выполнять различные функции: обеспечивать дополнительные взаимодействия с аналитами, динамически модифицировать стенки кварцевого капилляра, выполнять роль мицелло- или микроэмульсионобразующего агента. Применение ИЖ в процессах онлайн-концентрирования в КЗЭ и МЭКХ (стэкинг, свипинг с высокопроводящей матрицей пробы) обеспечило значительное увеличение чувствительности определения биологически активных веществ, что продемонстрировано на примере гидрофильных (катехоламинов, аминокислот) и гидрофобных (стероидные гормоны и полифенолы) аналитов. Предложены схемы электрофоретического определения (МЭКХ) стероидных гормонов и катехоламинов в реальных объектах (моча) с введением ионной жидкости $C_{16}MImCl$ в фоновый электролит, а также определение (МЭЭКХ) полифенолов и стероидных гормонов с применением ИЖ в составе микроэмульсии в качестве масла и ПАВ соответственно. Сопоставление с традицион-

но используемыми катионными ПАВ показало, что ИЖ позволяют существенно повысить чувствительность определения аналитов различной природы. Достигнуты пределы обнаружения (на уровне нг/мл), достаточные для их определения в природных объектах.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта РФФ № 19-13-00370. Выражаем благодарность Ресурсному центру СПбГУ “Методы анализа состава вещества” за предоставленное оборудование.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hayes R., Warr G.G., Atkin R. Structure and nanostructure in ionic liquids // *Chem. Rev.* 2015. V. 115. P. 6357.
2. Sun P., Armstrong D.W. Ionic liquids in analytical chemistry // *Anal. Chim. Acta.* 2010. V. 661. P. 1.
3. Soukup-Hein R.J., Warnke M.M., Armstrong D.W. Ionic liquids in analytical chemistry // *Annu. Rev. Anal. Chem.* 2009. V. 2. P. 145.
4. Tanga S., Liu S., Guo Y., Liu X., Jiang S. Recent advances of ionic liquids and polymeric ionic liquids in capillary electrophoresis and capillary electrochromatography // *J. Chromatogr. A.* 2014. V. 1357. P. 147.
5. Yu R.B., Quirino J.P. Ionic liquids in electrokinetic chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1637. Article 461801.
6. Карцова Л.А., Бессонова Е.А., Колобова Е.А. Ионные жидкости – модификаторы хроматографических и электрофоретических систем // *Журн. аналит. химии.* 2016. Т. 71. С. 141. (Kartsova L.A., Bessonova E.A., Kolobova E.A.)

- Kolobova E.A.* Ionic liquids as modifiers of chromatographic and electrophoretic systems // *J. Anal. Chem.* 2016. V. 71. P. 147.)
7. *Ionic Liquids in Chemical Analysis (Analytical Chemistry)* / Ed. Koel M. US: CRC Press, 2009.
 8. *Vaher M., Koel M., Kaljurand M.* Non-aqueous capillary electrophoresis in acetonitrile using ionic-liquid buffer electrolytes // *Chromatographia.* 2001. V. 53. P. S302.
 9. *Yanes E.G., Gratz S.R., Baldwin M.J., Robison S.E., Stalcup A.M.* Capillary electrophoretic application of 1-alkyl-3-methylimidazolium-based ionic liquids // *Anal. Chem.* 2001. V. 73. P. 3838.
 10. *Guo X.F., Chen H.Y., Zhou X.H., Wang H., Zhang H.S.* N-methyl-2-pyrrolidonium methyl sulfonate acidic ionic liquid as a new dynamic coating for separation of basic proteins by capillary electrophoresis // *Electrophoresis.* 2013. V. 34. P. 3287.
 11. *Li J., Han H., Wang Q., Liu X., Jiang S.* Polymeric ionic liquid as a dynamic coating additive for separation of basic proteins by capillary electrophoresis // *Anal. Chim. Acta.* 2010. V. 674. P. 243.
 12. *Tursen J., Wang A., Qin W.* Electrophoretic separation of acidic and basic proteins in the presence of micromolar concentrations of an ionic liquid // *Microchim. Acta.* 2011. V. 174. P. 63.
 13. *Li J., Yu T., Xu G., Du Y., Liu Z., Feng Z., Yang X., Xi Y., Liu J.* Synthesis and application of ionic liquid functionalized β -cyclodextrin, mono-6-deoxy-6-(4-amino-1,2,4-triazolium)- β -cyclodextrin chloride, as chiral selector in capillary electrophoresis // *J. Chromatogr. A.* 2018. V. 1559. P. 178.
 14. *El-Hady D.A., Albishri H.M., Wätzig H.* Ionic liquids in enhancing the sensitivity of capillary electrophoresis: Off-line and on-line sample preconcentration techniques // *Electrophoresis.* 2016. V. 37. P. 1609.
 15. *Ferreira T.A., Flores-Aguilar J.F., Santos E.M., Rodriguez J.A., Ibarra I.S.* New poly(ionic liquid) based fiber for determination of oxytetracycline in milk samples by application of SPME-CE technique // *Molecules.* 2019. V. 24. P. 430.
 16. *Quirino J.P., Anres P., Sirieix-Plénet J., Delaunay N., Gareil P.* Potential of long chain ionic liquids for on-line sample concentration techniques: Application to micelle to solvent stacking // *J. Chromatogr. A.* 2011. V. 1218. P. 5718.
 17. *Li J., Yu T., Xu G., Du Y., Liu Z., Feng Z., Yang X., Xi Y., Liu J.* Synthesis and application of ionic liquid functionalized β -cyclodextrin, mono-6-deoxy-6-(4-amino-1,2,4-triazolium)- β -cyclodextrin chloride, as chiral selector in capillary electrophoresis // *J. Chromatogr. A.* 2018. V. 1559. P. 178.
 18. *Yu J., Zuo L., Liu H., Zhang L., Guo X.* Synthesis and application of a chiral ionic liquid functionalized β -cyclodextrin as a chiral selector in capillary electrophoresis // *Biomed. Chromatogr.* 2013. V. 27. P. 1027.
 19. *Kolobova E.A., Kartsova L.A., Bessonova E.A., Alopina E.V., Safonova E.* The possibilities of amino acid ionic liquids as a chiral selectors at separation of enantiomers of amino acids and β -blockers // *J. Chromatogr. Sep. Tech.* 2016. V. 7. P. 97.
 20. *Колобова Е.А., Карцова Л.А., Бессонова Е.А.* Ионные жидкости на основе имидазола в качестве модификаторов электрофоретических систем при определении биогенных аминов и стероидных гормонов // *Вестник СПбГУ. Сер. 4.* 2015. Т. 2(60). Вып. 3. С. 175.
 21. *Колобова Е.А., Карцова Л.А., Бессонова Е.А.* Применение ионных жидкостей на основе имидазола при электрофоретическом определении аминокислот в моче // *Журн. аналит. химии.* 2015. Т. 70. № 11. С. 1179. (*Kolobova E.A., Kartsova L.A., Bessonova E.A.* Application of ionic liquids based on imidazole to the electrophoretic determination of amino acids in urine // *J. Anal. Chem.* 2015. V. 70. P. 1342.)
 22. *Kolobova E.A., Kartsova L.A., Kravchenko A.V., Bessonova E.A.* Imidazolium ionic liquids as dynamic and covalent modifiers of electrophoretic systems for determination of catecholamines // *Talanta.* 2018. V. 188. P. 183.
 23. *Бессонова Е.А., Карцова Л.А., Галлямова В.Ф.* Влияние ионной жидкости хлорид 3-метил-1-цетилимидазолия на процессы электрофоретического концентрирования стероидных гормонов // *Журн. аналит. химии.* 2016. Т. 71. № 7. С. 724. (*Bessonova E.A., Kartsova L.A., Gallyamova V.F.* Effect of 3-methyl-1-cetylimidazolium chloride ionic liquid on the electrophoretic preconcentration of steroid hormones // *J. Anal. Chem.* 2016. V. 71. P. 696.)
 24. *Карцова Л.А., Бессонова Е.А., Москвичев Д.О.* Разделение стероидных гормонов методом микроэмульсионной электрокинетической хроматографии с участием ионных жидкостей // *Аналитика и контроль.* 2019. Т. 23. № 2. С. 193. (*Kartsova L.A., Bessonova E.A., Moskvichev D.O.* Separation of steroid hormones by microemulsion electrokinetic chromatography involving ionic liquids // *Anal. Control.* 2019. V. 23. P. 193.)
 25. *Bessonova E.A., Kartsova L.A., Gallyamova V.F.* Ionic liquids based on imidazole for on-line concentration of catecholamines in capillary electrophoresis // *J. Sep. Sci.* 2017. V. 40. P. 2304.
 26. *Kartsova L.A., Sidorova A.A., Ganga O.V.* Chromatographic and electrophoretic determination of catecholamines, metanephrines and 3,4-dihydroxyphenylalanine in urine and human plasma // *Sorption Chromatogr. Process.* 2008. V. 8. P. 75.
 27. *Watarai H.* Microemulsion capillary electrophoresis // *Chem. Lett.* 2006. V. 20. P. 391.
 28. *Pomponio R., Gotti R., Fiori J., Cavrini V.* Microemulsion electrokinetic chromatography of corticosteroids // *J. Chromatogr. A.* 2005. V. 1081. P. 24.
 29. *Boso R.L., Bellini M.S., Miksik I., Deyl Z.* Microemulsion electrokinetic chromatography with different organic modifiers: separation of water- and lipid-soluble vitamins // *J. Chromatogr. A.* 1995. V. 709. P. 11.
 30. *Pomponio R., Gotti R., Luppi B., Cavrini V.* Microemulsion electrokinetic chromatography for the analysis of green tea catechins: Effect of the cosurfactant on the separation selectivity // *Electrophoresis.* 2003. V. 24. P. 1658.
 31. *Yin C., Cao Y., Ding S., Wang Y.* Rapid determination of water- and fat-soluble vitamins with microemulsion

- electrokinetic chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2008. V. 1193. P. 172.
32. *Nieto N.K., Rodriguez J.A., Ibarra I.S., Cruz-Borbolla J., Vasquez-Perez J.M.* Determination of antibiotics in feedstuff samples by microemulsion electrokinetic chromatography using fullerene as additive // *Electrophoresis*. 2018. V. 39. P. 2228.
33. *Subirats X., Yuan H.P., Chaves V., Marzal N., Rosés M.* Microemulsion electrokinetic chromatography as a suitable tool for lipophilicity determination of acidic, neutral, and basic compounds // *Electrophoresis*. 2016. V. 37. P. 2010.
34. *Buchberger W.* Microemulsion electrokinetic chromatography // *Methods Mol. Biol.* 2016. V. 1483. P. 91.
35. *Giringer K., Holtkamp H.U., Movassaghi S., Tremlett W.D.J., Lam N.Y.S., Kubanik M., Hartinger C.G.* Analysis of ruthenium anticancer agents by MEEKC-UV and MEEKC-ICP-MS: Impact of structural motifs on lipophilicity and biological activity // *Electrophoresis*. 2018. V. 39. P. 1201.
36. *Chu B.L., Guo B.Y., Wang Z.H., Lin J.M.* Enantioseparation of esbiothrin by cyclodextrin-modified microemulsion and micellar electrokinetic chromatography // *J. Sep. Sci.* 2008. V. 31. P. 3911.
37. Проблемы аналитической химии Т. 18: Капиллярный электрофорез / Под ред. Карцовой Л.А. Научный совет по аналитической химии ОХНМ. М.: Наука, 2014. 442 с. [Издано при поддержке РФФИ].
38. *Cao J., Qu H., Cheng Y.* The use of novel ionic liquid-in-water microemulsion without the addition of organic solvents in a capillary electrophoretic system // *Electrophoresis*. 2010. V. 31. P. 3492.
39. *Li F., Yang F.Q., Xia Z.N.* Simultaneous determination of ten nucleosides and related compounds by MEEKC with [BMIM]PF₆ as oil phase // *Chromatographia*. 2013. V. 76. P. 1003.
40. *Ni X., Yu M., Cao Y.* Microstructure of microemulsion modified with ionic liquids in microemulsion electrokinetic chromatography and analysis of seven corticosteroids // *Electrophoresis*. 2013. V. 34. P. 2568.
41. *Flood K.G., Reynolds E.R., Snow N.H.* Characterization of inclusion complexes of betamethasone-related steroids with cyclodextrins using high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2000. V. 903. P. 49.
42. *Kartsova L., Moskvichev D., Bessonova E., Peshkova M.* Imidazolium ionic liquids in microemulsion electrokinetic chromatography for separation of polyphenol antioxidants // *Chromatographia*. 2020. V. 83. P. 1001.

УДК 543.544.33

ПАССИВНЫЕ СОРБЕРЫ НА ОСНОВЕ УГЛЕРОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ И ИХ СРАВНЕНИЕ ДЛЯ ОЦЕНКИ НЕФТЕГАЗОНОСНОСТИ ПОРОД

© 2021 г. А. В. Пирогов^а, Е. С. Маркова^{а, *}, В. Ю. Ананьев^б

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

^бФедеральный центр гигиены и эпидемиологии Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Варшавское шоссе, 19А, Москва, 117105 Россия

*e-mail: kate.s.markova@yandex.ru

Поступила в редакцию 07.04.2021 г.

После доработки 12.04.2021 г.

Принята к публикации 12.04.2021 г.

Рассмотрены сорбенты, применяемые для анализа воздуха на содержание в нем различных органических соединений с последующим их определением методом термодесорбционной газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС). Тенах-ТА является самым распространенным материалом для решения подобных задач, но он не лишен недостатков. Приведены характеристики сорбентов семейств Тенах, Carbosieve, Carboxen, Carbotrap, Carborack, Porapak, Chromosorb, полимерных смол ХАД, а также активированных углей и некоторых монолитных углеродных материалов. Обсуждены их достоинства и недостатки для сорбции/термодесорбции углеводородов. Обоснованы преимущества монолитных углеродных материалов и необходимость разработки нового отечественного материала для аналитической ГХ-МС с термодесорбцией при решении нефтепоисковых задач.

Ключевые слова: пассивные сорберы, углеродные сорбенты, Тенакс, карбид кремния, газовая хроматография с термодесорбцией.

DOI: 10.31857/S0044450221090085

Загрязнение летучими органическими соединениями (ЛОС) воздуха внутри и вне помещений представляет опасность для здоровья людей. В связи с этим существует потребность в разработке простого, недорогого и надежного способа определения концентраций летучих органических соединений.

Пассивный пробоотбор – перспективный метод отбора проб для определения средневзвешенного по времени среднего значения концентрации летучих органических соединений в воздухе [1, 2]. Во-первых, такой способ отбора проб очень прост – требуется только установить патрон с сорбентом (далее – сорбера) на некоторое время в районе, где требуется определить концентрацию ЛОС (помещение, природный участок и т.п.). Во-вторых, он не требует применения насоса, в отличие от метода активного отбора проб. В-третьих, устройства для отбора проб легкие и недорогие, они удобнее для транспортировки и хранения по сравнению с громоздкими канистрами отбора воздуха для доставки его в лабораторию.

Наиболее сложным шагом в пассивном пробоотборе является выбор сорбента и определение

времени экспозиции сорбера. Последний параметр определяется чувствительностью метода последующего анализа и зависит от так называемой “диффузионной скорости загрузки” (UR) [3]. Во многих исследованиях UR определяли из теории диффузии [4], в лабораторных камерах [5–8] и путем сравнения активной и пассивной выборки “в поле” [9, 10]. На величину UR влияют многие факторы, в том числе выбор сорбента, конфигурация трубки, длительность воздействия и условия окружающей среды.

Для конкретного ЛОС идеальная скорость поглощения (UR(опт), мл/мин) составляет [11]:

$$UR(опт) = D \frac{A}{L} \times 60,$$

где D – коэффициент диффузии соединения, см²/с; A – площадь поперечного сечения сорбера, см²; L – воздушный зазор между корпусом сорбента и поверхностью сорбента, см; 60 – коэффициент для преобразования мл/с в мл/мин. Из рис. 1 видно, что для наиболее успешной и быстрой сорбции параметр A должен иметь высокое значение, а параметр L – по возможности минимальное.

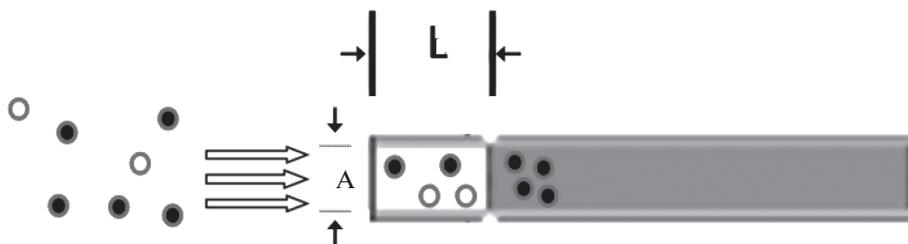


Рис. 1. Структура и геометрия пассивного пробоотборника трубчатого типа для улавливания летучих органических соединений.

Коэффициент диффузии D является физическим свойством химического вещества и может быть экспериментально определен или рассчитан. В идеале UR(опт) может быть теоретически рассчитана для любого соединения. Однако, UR(реал) значительно отличается от UR(опт) из-за конвекции, специфических свойств сорбента, обратной диффузии (летучести сорбированных аналитов) и насыщения сорбента в течение длительного времени.

К сожалению, только небольшая часть летучих органических соединений охарактеризована значениями UR(опт), определенными и подтвержденными в лаборатории и/или в натурном эксперименте. Для определения этой величины требуются сложные приборы, хорошо контролируемые лабораторные условия и занимающие много времени полевые тесты, что делает непрacticным для обычных пользователей экспериментальное определение UR. Обычно эту величину определяют экспе-

риментально или берут из публикаций, посвященных использованию того или иного сорбера. Для градуировки используют метод внутреннего стандарта или цветовую полуколичественную шкалу (если сорбент меняет цвет в зависимости от количества поглощенного вещества/веществ).

Среди методов обнаружения новых залежей углеводородов (УВ) особый интерес представляет площадная геохимическая съемка. Этот высокотехнологичный метод основан на использовании пассивных сорберов с различными сорбентами, которые извлекают из почвенного воздуха углеводороды, характерные для нефтей. Их наличие и концентрация отражают географическое расположение нефтенасыщенной зоны. Технология пассивной адсорбции углеводородов почвенно-грунтовых газов (от этана C_2 до фитана C_{20}) основана на известной теории Пирсона о так называемом “углеводородном дыхании” недр – явлении диффузионного проникновения углеводородов в надзалежное пространство путем микрофльтрации, что подтверждается на многочисленных месторождениях нефти и газа. На рис. 2 схематически представлен такой способ пробоотбора. Типичное время сорбции 10–14 дней.

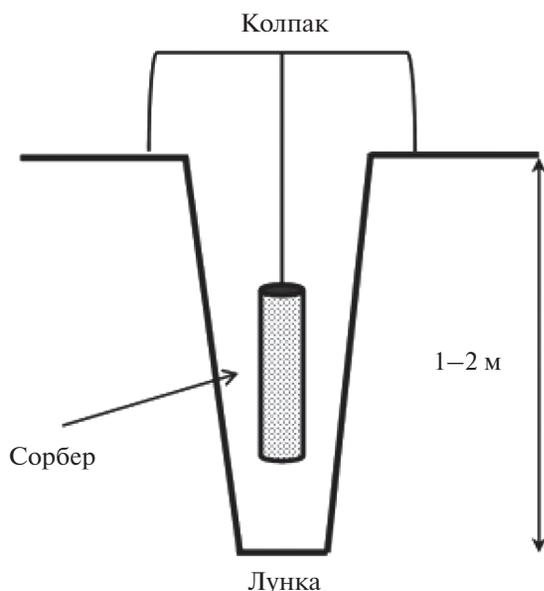


Рис. 2. Использование пассивного сорбера для извлечения углеводородов из почвенного воздуха.

Данный способ поиска новых месторождений не требует больших денежных затрат [12], присутствия оператора при пробоотборе (достаточно поместить сорбент в исследуемую среду на определенное время [13]), а также позволяет эффективно оценить нефтегазоносность территории за счет поглощения широкого спектра соединений, являющихся нефтяными маркерами (n -алканы, изоалканы, циклоалканы, моно- и полиароматические соединения (ПАУ) и т.д.) [12].

На сегодняшний день разработано более 200 материалов, различающихся по механизму сорбции, значениям нефте- и водопоглощения, структуре материала и т.д. [14].

Цель данного сообщения – сравнение свойств некоторых порошковых сорбентов и оценка пригодности этих материалов для площадной геохимической съемки. Микрофотографии сорбентов представлены на рис. 3.

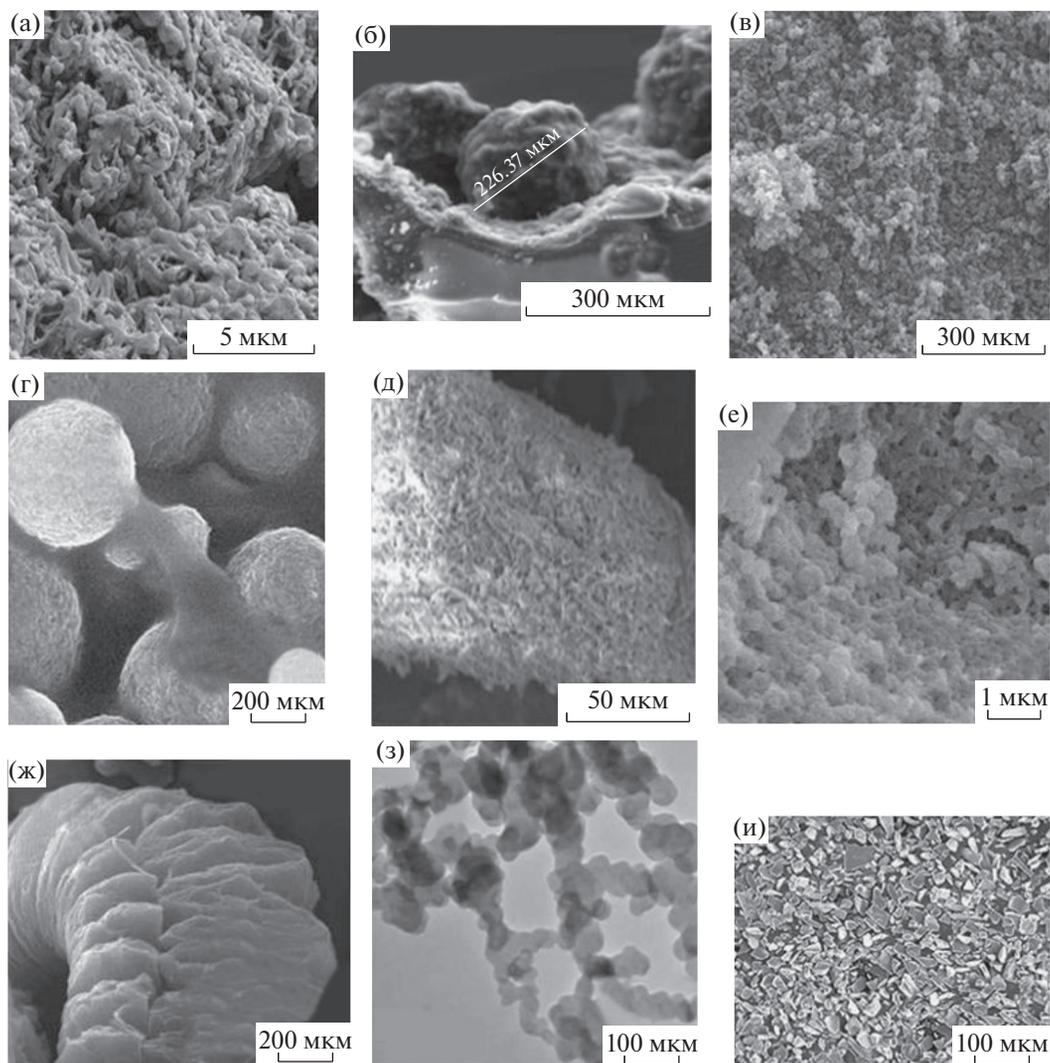


Рис. 3. Микрофотографии различных сорбентов: (а) – Tenax-TA [15], (б) – Carborack [16], (в) – Carbotrap [17], (г) – Carboxen [18], (д) – Chromosorb-P [19], (е) – XAD-7HP [20], (ж) – расслоенный графит [21], (з) – Carbon black [22], (и) – SiC [23].

Для прогноза нефтегазоносности территории наиболее информативными являются летучие органические соединения C_8 – C_{20} [24–26]. Более тяжелые УВ обладают низким давлением насыщенных паров при нормальных условиях, из-за чего их сорбция в почвенном воздухе является проблематичной. В табл. 1 перечислены материалы, используемые для определения органических веществ методом термодесорбционной газовой хромато-масс-спектрометрии (ТД-ГХ-МС). Наиболее распространенным среди них является Tenax-TA.

Сорбенты Tenax. Tenax-TA (ранее GC [15]) – пористый полимерный материал с размером частиц около 200 мкм, обладает развитой поверхностью, легко десорбирует углеводороды при термодесорбции [34] (рис. 3а). Однако этот сорбент

не является универсальным и имеет ряд недостатков: он неприменим в условиях высокой влажности [35] и при температурах десорбции выше $300^{\circ}C$ [36]. Tenax-TA производится за рубежом и имеет высокую стоимость [37], реагирует с такими окислителями, как хлор, озон, оксиды азота и серы с образованием ацетофенона, бензальдегида и фенола [38]. Отмечается также невозможность хранения образцов дольше 14 дней [15] и низкие “объемы до проскока” для очень летучих соединений.

Некоторые недостатки этого материала устраняют путем добавления графитированной сажи (ГС) (рис. 3з) [39] при полимеризации или частичном обугливания Tenax-TA. Полученный сорбент (Tenax-GR) лучше и быстрее сорбирует некоторые УВ в диапазоне C_5 – C_8 (изопрен, толу-

Таблица 1. Сорбенты для улавливания паров углеводородов

Название материала	Состав	Область применения (определяемые соединения)	Площадь поверхности, м ² /г	Рекомендуемая температура десорбции, °С
Тепак-ГА	Поли(2,6-дифенил- <i>n</i> -фениленоксид)	Полиароматические соединения (ПАУ: флуорен, аценафтен, аценафтилен, фенантрен, антрацен, т.д.) [27], <i>n</i> -алканы, изоалканы и моноароматические углеводороды в диапазоне C ₇ –C ₁₅ [24], хлорбензальмондинитрил [28]	35	280
Тепак-GR	Частично графитированный Тепак-ГА (примерно 20–30% ГС)	Низкомолекулярные ЛОС (этан, бутан, хлорметан, др.), углеводороды C ₅ –C ₈ (ксилолы, толуол, др.) [29], C ₇ –C ₃₀ (ПАУ, моноароматические соединения, полихлорированные дифенилы)	25	320
Carbosieve и Carboxen	Углеродные молекулярные сита	УВ C ₃ –C ₉ (Carboxen-1016), C ₂ –C ₅ (Carbosieve-G, Carbosieve S-III, Carboxen-1032)	400–1500	330
Carbopack, Carbograph и Carbotrap	Графитированный углерод (размер частиц от 100 до 800 мкм)	УВ C ₅ –C ₁₂ (Carbopack-B), C ₅ –C ₂₀ (Carbotrap-202), C ₂ –C ₁₄ (Carbotrap-200), хлорбензальмондинитрил (Carbotrap-300) [28], алкилбензолы и алифатические соединения от C ₈ до C ₂₀ (Carbopack-C), УВ C ₃ –C ₈ (Carbograph-5TD) [30]	5–240	330
XAD-2, XAD-4, XAD-7	Сополимер стирола и дивинилбензола (ДВБ)	Тиофосфаты, органические кислоты (фталевая, янтарная), примеси нитросоединений (XAD-2) [31]	290–750	150–200
АУ	Пористый углеродный материал	Алканы, галогеналканы, кетоны, спирты, эфиры, ацетон [31], ПАУ [32]	800–1000	400

Таблица 1. Окончание

Название материала		Состав	Область применения (определяемые соединения)	Площадь поверхности, м ² /г	Рекомендуемая температура десорбции, °С
РогоРак Chromosorb серии 100 (или "Century")	P	Сополимер стирола и ДВБ	Алканы C ₅ -C ₈ [33], спирты, гликоли, альдегиды, кетоны [31]	100-200	250
	Q	Сополимер этилстирола и ДВБ	Кислородсодержащие ЛОС [2], низкокипящие хлоруглеводороды (например, хлористый метилен) [31]	500-600	250
	N	Сополимер стирола, ДВБ и винилпирролидона	Ацетилен, алифатические УВ, оксиды олефинов, хлоруглеводороды C ₁ -C ₁₂ , сложные эфиры, нитросоединения, меркаптаны [31]	225-350	200
	R		Нитрилы	500-550	
	S	Сополимер стирола, ДВБ и винилпиридина	Спирты, хлорсодержащие УВ	300-450	200
	S	Сополимер стирола и этиленгликольдиметакрилата	Формальдегид [31], амины	250-350	200
	101	Сополимер стирола и ДВБ	Алканы, спирты, гликоли, альдегиды, кетоны, эфиры, карбоновые кислоты [31]	350	300
	102		Спирты, кетоны, алифатические УВ [2], низкипящие ЛОС, хлорсодержащие пестициды [31]	300-400	250
	103	Полистирол	Арсены, фосфины, амины, аммиак, гидразины [31]	350	275
	106		Алканы C ₅ -C ₁₂ , кислородсодержащие ЛОС [2]	700-800	250
	104	Сополимер акрилонитрила и ДВБ	Нитрилы, нитропарафины, аммиак, оксиды азота [31]	100-200	250
	105	Полиароматический сорбент	Ацетилен, формальдегид [31]	600-700	250
	107	Полиакриловый эфир	Ацетилен [31]	400-500	250
	108		Спирты, альдегиды, кетоны, гликоли [31]	100-200	200

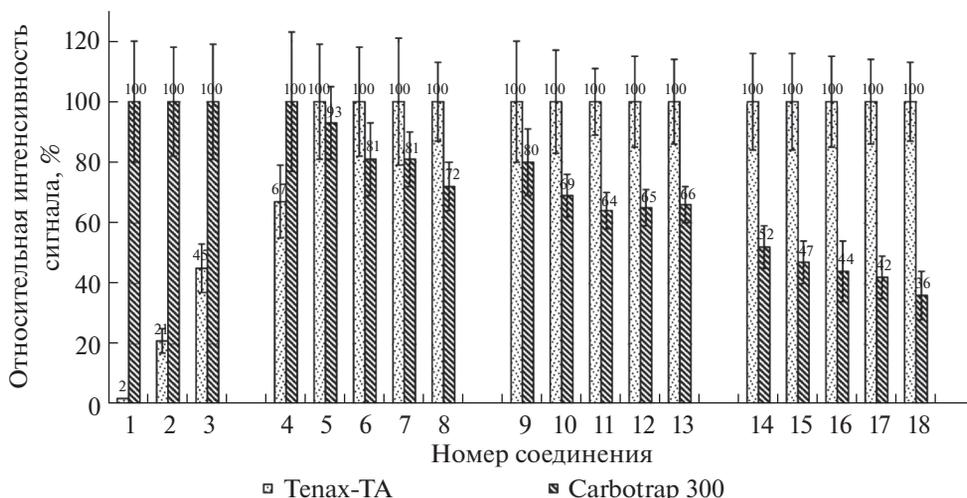


Рис. 4. Сравнение площадей пиков на хроматограмме после термодесорбции органических веществ жидкости для розжига: 1 – этанол, 2 – ацетон, 3 – бутанол, 4 – гексан, 5 – метилгексан, 6 – гептан, 7 – метилгептан, 8 – октан, 9 – толуол, 10 – *o*-ксилен, 11 – этилбензол, 12 – триметилбензол, 13 – этилдиметилбензол, 14 – додекан, 15 – тридекан, 16 – тетрадекан, 17 – пентадекан, 18 – гексадекан.

ол, ксилолы), имеет более широкий интервал рабочих температур и хуже сорбирует пары воды [29]. Несмотря на меньшую площадь поверхности Tenax-GR по сравнению с Tenax-TA, “объемы до проскока” для большинства ЛОС на Tenax-GR в два раза больше, чем на Tenax-TA, но во всем остальном эти сорбенты не имеют значимых отличий. В результате частичной карбонизации сорбент Tenax-GR способен работать при чуть более высоких температурах десорбции.

Сорбенты Carborpack, Carbograph и Carbotrap. Графитированная сажа – неспецифический углеродный сорбент, который широко используют для определения следовых количеств органических соединений. Материалы Carbograph, Carborpack и Carbotrap представляют собой частицы графитированных саж разного размера (от 100 до 800 мкм) с сильно различающейся площадью поверхности (табл. 1). В этой линейке есть и очень “слабые” (Carborpack-F), и “сильные” сорбенты (Carborpack-X), что позволяет подобрать материал для улавливания как мало-, так и высоколетучих соединений. Такие сорбенты гидрофобны (можно использовать для определения УВ и в водных средах), имеют высокую степень чистоты (низкий фоновый сигнал и уровень шума) [40], не подвержены разложению при 300–350°C, как Tenax, допускают повторное использование после процедур очистки (но не более 200 раз) [41]. В идентичных условиях хроматограммы десорбатов, полученные с Carbotrap, содержат больше пиков полярных веществ, чем при использовании Tenax (рис. 4) [42]. Тем не менее графитированные сажи тоже имеют минусы – десорбция соединений с высокими температурами кипения (250–300°C) происходит не полностью [43], мельчай-

шие примеси в адсорбенте могут действовать как специфические активные центры и исказить результаты анализа [41].

Сорбенты Carbosieve и Carboxen. Углеродные молекулярные сита (УМС) представляют собой пористый углеродный скелетный каркас, который получают пиролизом органических полимеров или из углей при температуре около 400°C [44, 45]. Площадь поверхности таких материалов в несколько раз выше по сравнению с графитированной сажой, их адсорбционная способность определяется размером и формой пор. Как правило, адсорбенты УМС обладают более высокой относительной адсорбционной способностью по сравнению с ГС благодаря наличию только микропор. Carbosieve и Carboxen – углеродные сорбенты с молекулярно-ситовыми свойствами, различающиеся по площади поверхности (от $S = 400 \text{ м}^2/\text{г}$ для Carboxen-564, до $S = 1500 \text{ м}^2/\text{г}$ для Carboxen-1012, исключение – Carboxen-1016 с $S = 75 \text{ м}^2/\text{г}$). В отличие от сорбентов на основе сажи (которые, как правило, имеют нерегулярную форму), молекулярные сита сферичны (исключение – гранулированный Carbosieve-G). Такие адсорбенты хорошо улавливают ЛОС от C_2 до C_5 , алканы от C_1 до C_4 (рис. 5 [46]), а также метанол (в отличие от Tenax и ГС). Как и Carbotrap, УМС практически не содержат примесей, но, как и в случае с Tenax-TA, УМС не способны работать в условиях высокой влажности [30], поскольку значительно уменьшаются объемы “проскока” ЛОС.

Сорбенты PoraPak. PoraPak – полимерные адсорбенты со сферической формой частиц. В настоящее время выпускается шесть типов таких сорбентов – P, Q (неполярные) и R, S, T и N

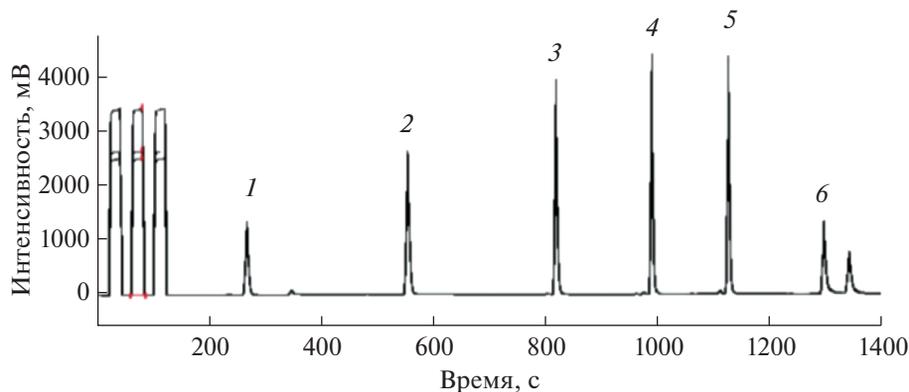


Рис. 5. Хроматограмма разделения смеси *n*-алканов (1 – метан, 2 – этан, 3 – пропан, 4 – бутан, 5 – пентан, 6 – гексан), полученная на газовом хромато-масс-спектрометре, оснащенный лайнером с сорбентом Carbosieve для концентрирования соединений. Колонка PorapLOT Q (25 м × 0.32 мм × 10 мкм, Agilent Technologies), градиентный режим (33°C в течение 6 мин, затем нагрев до 200°C со скоростью 15°C/мин и поддержание температуры в течение 6 мин), концентрация каждого соединения в смеси 100 мкг/мл.

(средней полярности) [47]. Все типы сорбента стабильны до 200–250°C, т.е. рабочий интервал температур меньше, чем у Tenax-TA. Среди недостатков материалов Porapak отметим более высокий фоновый сигнал, чем у других адсорбентов, трудоемкую очистку [48], слабую адсорбцию газов и паров низкомолекулярных полярных соединений (метанол, этанол, формальдегид, ацетон) [45]. Сроки хранения образцов со сконцентрированными на них ЛОС у Porapak и Tenax-TA не отличаются [49]. Следует отметить, что такие полимеры пригодны для сорбции не только неполярных веществ, но и для концентрирования полифункциональных органических соединений кислотного и основного характера [50]. Однако более низкая по сравнению с другими сорбентами сорбция неполярных углеводородов затрудняет их использование в нефтепоисковой практике [31].

Сорбенты Chromosorb серии 100 (или “Century”, 101–108). Сорбенты этой серии получают полимеризацией монофункциональных мономеров с дифункциональными. Размер частиц сорбентов от 100 до 250 мкм. Подобно сорбентам Porapak имеют широкий диапазон полярности, наименее полярным является Chromosorb-101, наиболее полярным – Chromosorb-104. Такие полимеры эффективны для улавливания из воздуха газов и ЛОС с температурой кипения до 250°C (рис. 6). Чаще других при пробоотборе используют Chromosorb-106, поскольку он имеет наиболее развитую удельную поверхность, и Chromosorb-102 [48, 31]. Однако Chromosorb-102 при анализе дает более высокий фоновый сигнал и уровень шума, а также взаимодействует с кислородом при нагревании [51]. В качестве достоинств сорбентов этого типа следует упомянуть продолжительный срок эксплуатации (очищают в токе азота при 150–170°C), более высокую адсорбционную спо-

собность по сравнению с Tenax-TA, способность удерживать очень низкие концентрации ЛОС. Сорбенты этого типа лучше сорбируют соединения при пониженной температуре, чем Tenax-TA [52]. Недостатки: наличие пиков примесей на хроматограмме холостого образца (рис. 7), низкие объемы “до проскока” для среднетлетучих органических соединений по сравнению с Tenax-TA. К недостаткам следует отнести и низкую максимальную температуру десорбции (из-за чего комбинирование с другими сорбентами, например с Carbotrap, затруднено) [53].

Полимерные смолы XAD. Смолы XAD (2, 4, 7) – неионогенные, гидрофобные, сферические синтетические адсорбенты [31]. Они отличаются от других сорбентов своей пористой макросетчатой структурой. Материал полидисперсный, т.е. кривая распределения пор по размерам имеет широкий пик с отсутствием четко выраженного максимума. Смолы XAD-2 и -4 используют для отбора неполярных соединений, а XAD-7 – полярных. Метанол плохо удерживается сорбентами (в отличие от диэтилового эфира). Сорбционная емкость сорбентов уменьшается в ряду: XAD-4 > XAD-7 > Porapak-Q > XAD-2 ≫ Porapak-P > Tenax-TA [54]. Достоинства смол: высокая механическая прочность [55], более высокие объемы “до проскока” по сравнению с Tenax-TA. Существует возможность комбинирования с другими сорбентами для сорбции большего количества соединений (например, с полианилином для улавливания ПАУ [56]). Полимерные смолы этого типа характеризуются высокой скоростью десорбции соединений [31], поскольку последние не проникают на большую глубину в микросферы полимера, а сорбируются на его поверхности. Такие материалы можно регенерировать при помощи обработки растворами гидроксида натрия, сульфата

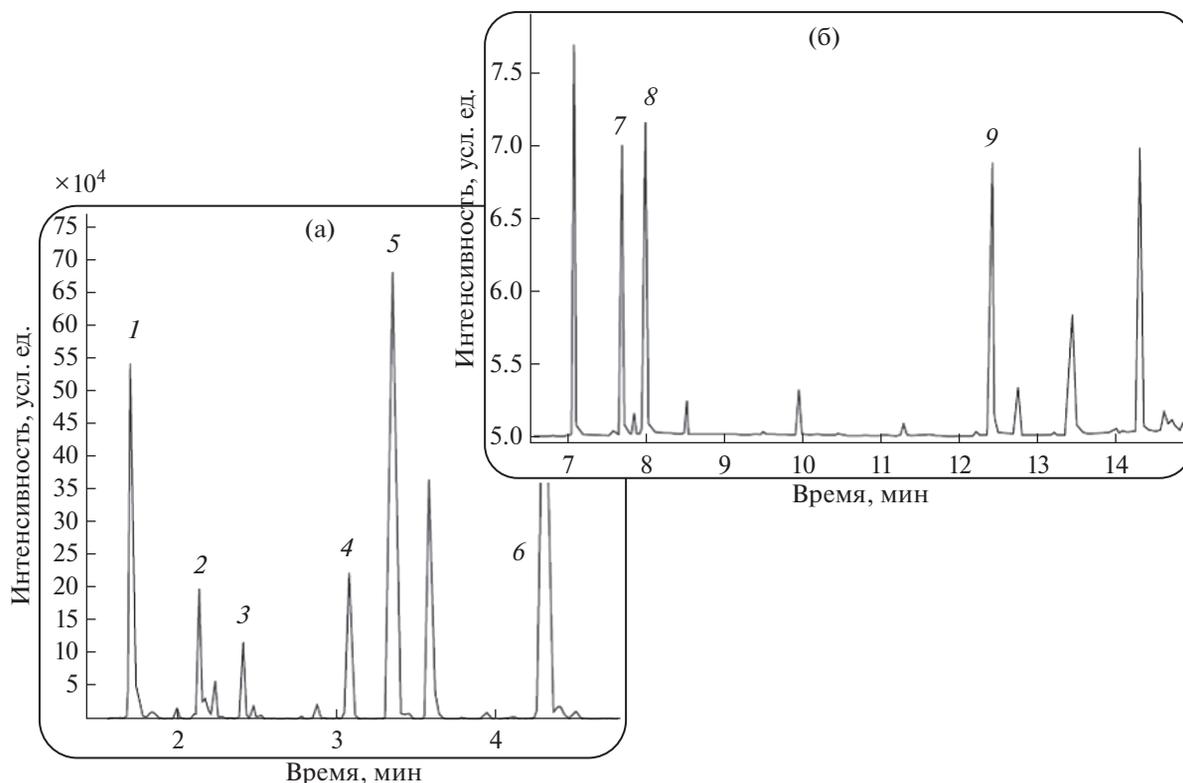


Рис. 6. Контроль содержания вредных веществ в воздухе рабочей зоны: (а) – определение растворителей (1 – SO₂, 2 – ацетон, 3 – CS₂, 4 – 1-хлорбутadiен-1,3, 5 – хлороформ, 6 – бензол), (б) – определение азотсодержащих соединений (7 – *n*-нитрохлорбензол, 8 – форманид, 9 – *n*-фенилендиамин). Отбор проб воздуха с помощью сорбционных трубок, заполненных Chromosorb-106, с последующим определением веществ методом ТД-ГХ-МС. Условия термодесорбции: *t* = 5 мин, *T* = 200°С, сорбент в криловушке Tenax-TA.

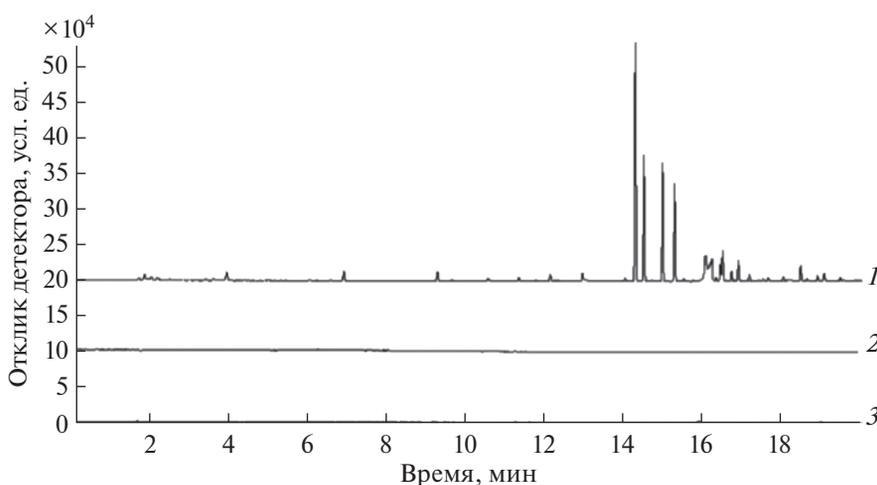


Рис. 7. Хроматограммы холостых образцов сорбентов Chromosorb-106 (1), Tenax-TA (2), Carbotrap (3).

натрия, хлороформом или ацетоном [55]. Недостатки материалов: высокая стоимость [57], искажение результатов анализа при высокой влажности в условиях сорбции. Имеются данные, что

число использований смолы ХАD-2 должно не быть более шести, после чего необходимо убедиться, что свойства сорбента не изменились и значительно ухудшились [58]. К недостаткам

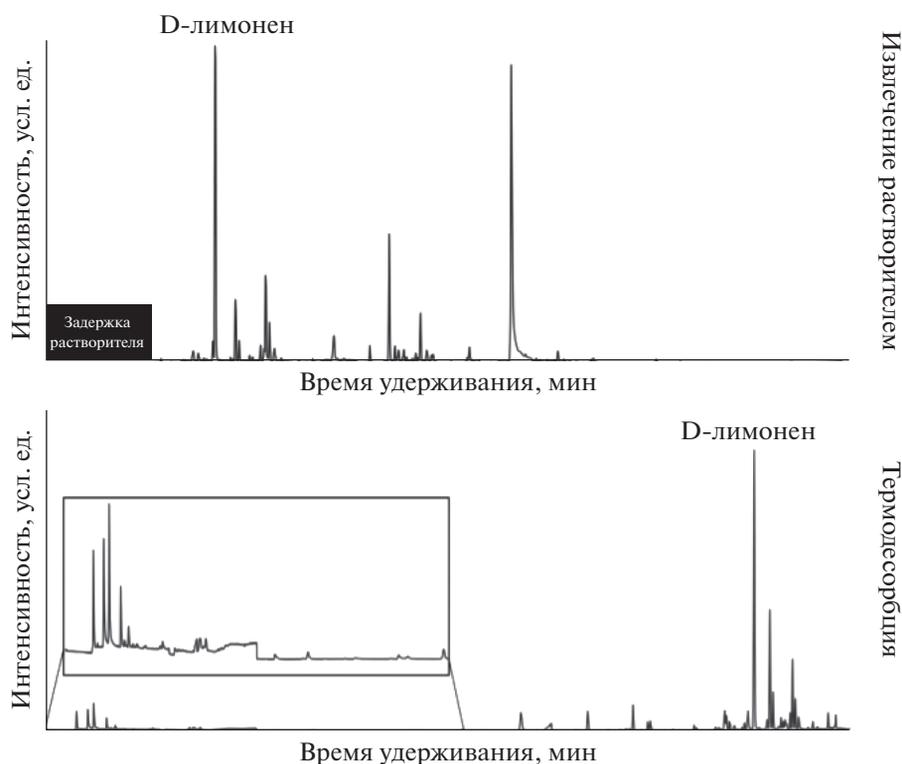


Рис. 8. Сравнение хроматограмм экстракта, полученного после обработки активированного угля сероуглеродом, и адсорбата на полимерном материале Tenax-TA.

следуют отнести и достаточную реакционную способность материалов – сорбенты реагируют экзотермически с окислителями даже при комнатной температуре.

Активированный (активный) уголь (АУ) – пористый сорбент, получаемый из различных углеродсодержащих материалов (скорлупа кокосовых орехов, нефтяной кокс, каменноугольный кокс, древесный уголь, кости крупного рогатого скота, др.). Материал содержит огромное количество пор (макро, мезо и микро), имеет большую площадь поверхности (табл. 1), что делает его очень эффективным сорбентом для поглощения соединений из воздуха. Его максимальная рабочая температура гораздо выше, чем у Tenax-TA. Выделяют три типа активированного угля – порошковый, гранулированный, формованный, которые отличаются друг от друга формой и размером частиц. Сущность процесса активации состоит во вскрытии пор, находящихся в закрытом состоянии, путем обработки углеродного материала углекислым газом при 800°C. Активированный уголь в основном используют для улавливания неполярных веществ, поскольку полярные соединения очень трудно извлекаются из сорбента [31]. Сорбционные характеристики материала позволяют применять его для извлечения из воздуха многих органических соединений, однако у

АУ есть существенные недостатки. Во-первых, он хорошо сорбирует влагу, из-за чего снижается сорбционная емкость концентраторов. Во-вторых, извлечение с применением АУ многих ЛОС затруднено, особенно при термодесорбции. Возникает необходимость нагрева криоловушки до 450°C, что приводит к появлению примесных пиков на хроматограмме за счет термодеструкции определяемых компонентов. Решить эту проблему можно двумя способами – либо заменить АУ на другой углеродсодержащий сорбент, свободный от этих недостатков (ГС или УМС), либо использовать другой метод десорбции соединений. Самый распространенный вариант – извлечение веществ растворителем (толуолом, сероуглеродом, нитрометан, др.) и дальнейший анализ экстракта методом ГХ. Однако в этом случае теряется часть соединений, как легких (их пики не детектируются из-за установки времени “задержки на растворитель”), так и тяжелых (хуже растворяются, рис. 8 [59]).

Таким образом, можно заключить, что идеального сорбента для целей поисковой геохимии нет. Tenax-TA на сегодняшний день является лидером среди сорбентов по числу методик на его основе для идентификации различных летучих органических соединений с последующим их определением методом ТД-ГХ-МС. Однако из-за опреде-

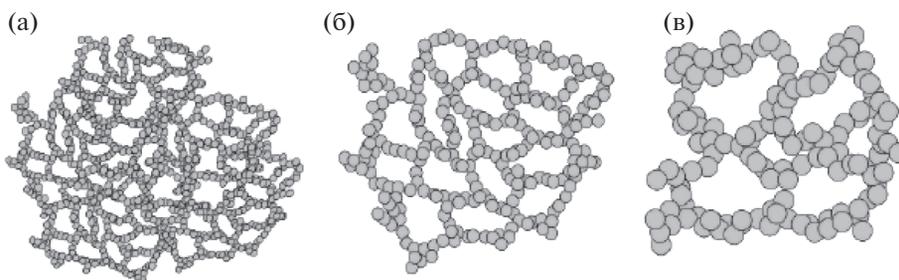


Рис. 9. Схема влияния порообразователя на макропористость и размер глобул монолитного сорбента. Количество “плохого” растворителя увеличивается от (а) к (в).

ленных недостатков этого материала для увеличения эффективности поиска новых нефтяных месторождений создание более универсального сорбента является актуальной задачей. Такой материал должен поглощать УВ в диапазоне C_8-C_{20} как алканового ряда, так и ароматические соединения для полноценного последующего анализа и обоснованной интерпретации полученных экспериментальных данных. Сорбент должен иметь широкий интервал рабочих температур, обладать высокой пористостью, желательным допуском многократное повторное использование после процедур кондиционирования и регенерации.

На наш взгляд, более перспективными для целей использования в пассивных сорберах при геологоразведке месторождений углеводородов являются монолитные углеродные материалы нового поколения. В отличие от порошковых материалов, они не содержат мелких легких частиц, следовательно, отсутствуют неконтролируемые потери при наполнении сорбера или высыпанию из него. Отрезанием куска определенной длины можно обеспечить постоянные равные и воспроизводимые массы сорбента от партии к партии. Повышается возможность многократного использования одного и того же сорбера. Углеродные материалы устойчивы при нагреве до $400-500^{\circ}C$, что дает возможность более полно десорбировать труднолетучие соединения и лучше подготавливать сорбер к последующему анализу. Более того, такие материалы электропроводны, что открывает возможность их очистки после анализа путем нагрева при пропускании электрического тока. Углеродная поверхность монолитов достаточно развитая и допускает возможность целенаправленной модификации, например, образования тех или иных функциональных групп или допирования металлами. Наконец, монолитные углеродные материалы дешевле синтетических импортных полимеров.

Монолитные сорбенты. Монолитные углеродные материалы с развитой поверхностью могут быть получены различными способами: свободно-радикальной трехмерной полимеризацией в

порогенных растворителях [60], сворачиванием графитовой фольги в жгуты (нити) подходящего размера [61] либо просто при печати полимерным органическим материалом на 3D-принтере, а потом обугливанием при высокой температуре [62]. Пористая структура таких материалов (рис. 9 [63]) отличается от структуры, формируемой макропористым гранулированным сорбентом. Она сочетает в себе доменные частицы малых размеров и макропоры, за счет чего осуществляется быстрый конвекционный, а не медленный диффузионный механизм массопереноса. Кроме того, монолитные сорбенты позволяют относительно легко регулировать структуру пор в зависимости от решаемой задачи.

В работе [64] показано, что высота, эквивалентная теоретической тарелке для монолитных сорбентов практически не зависит от типа сорбента. Монолитные сорбенты могут быть синтезированы на матрице как органических, так и неорганических веществ (например, силикагеля, рис. 10 [65, 66]).

В дальнейшем монолитные углеродные сорбенты можно модифицировать, например, увеличить гидрофобность поверхности за счет введения углеродных нанотрубок, графена, УМС или АУ [63, 67]. Запатентован монолитный материал [67] на неорганической основе (октадецилсилане) с площадью поверхности $600-700 \text{ м}^2/\text{г}$ и размером пор от 5 до 10 мкм. Монолит содержит 1.5% АУ (по массе), что улучшает его сорбционные свойства по отношению к галогеналканам (рис. 11). Другой пример модификации приведен в работе [68], где авторы используют композиционный материал на основе поли(бензил)метакрилата, допированный углеродными нанотрубками, для сорбции полиароматических углеводородов. Площадь поверхности такого материала составила $55.84 \text{ м}^2/\text{г}$ при доле включений 0.3% (по массе), при этом площадь поверхности исходного монолита составила $25.63 \text{ м}^2/\text{г}$. В результате удалось увеличить температуру разложения сорбента и повысить эффективность экстракции ПАУ.

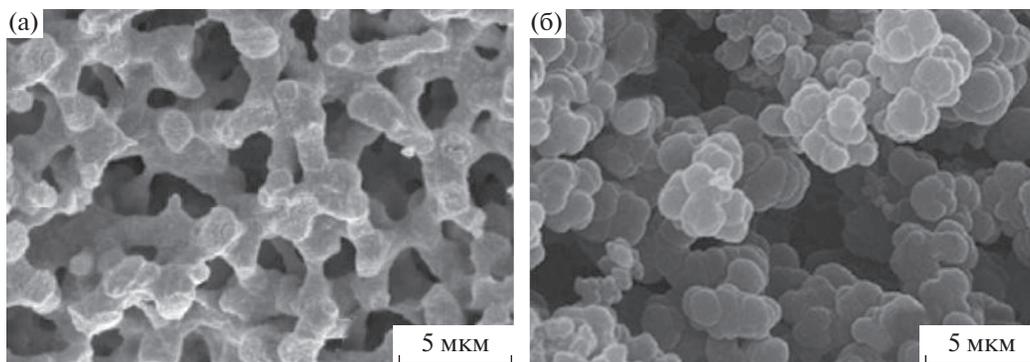


Рис. 10. Микрофотографии силикагелевого (а) и органического (б) монолитных материалов.

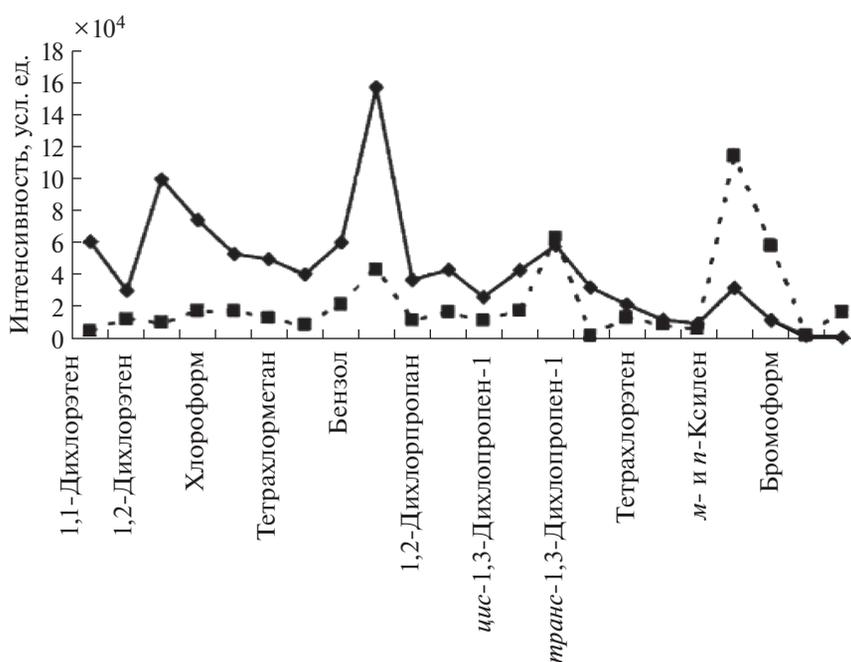


Рис. 11. Интенсивность хроматографических пиков при определении летучих органических соединений с помощью чистого монолита (пунктирная линия) и монолитной структуры, содержащей активированный уголь (сплошная линия).

Помимо универсальных монолитных материалов, существуют и селективные адсорбенты для определения летучих аналитов (например, никотина) [69]. Используют молекулярно-импринтированную полимерную систему (МИП) на основе кремнезема. Такие адсорбционные материалы несложно получить, при этом они являются высокостабильными и специфичными. Однако для целей нефтепоисковой геохимии их не применяли.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-33-90073.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Gorecki T., Namiesnik J.* Passive sampling // *Trends Anal. Chem.* 2002. V. 21. № 4. P. 276.
2. *Krol S., Zabiegala B., Namiesnik J.* Monitoring VOCs in atmospheric air II. Sample collection and preparation // *Trends Anal. Chem.* 2010. V. 29. № 9. P. 1101.
3. *U.S. Environmental Protection Agency.* Passive samplers for investigations of air quality: Method description, implementation, and comparison to alternative sampling methods (EPA/600/R-14/434) // USEPA. 2014. P. 1.
4. *Batterman S., Metts T., Kalliokoski P.* Diffusive uptake in passive and active adsorbent sampling using thermal

- desorption tubes // *J. Environ. Monit.* 2002. V. 4. № 6. P. 870.
5. *Martin N.A., Marlow D.J., Henderson M.H., Goody B.A., Quincey P.G.* Studies using the sorbent Carbo-pack X for measuring environmental benzene with Perkin-Elmer-type pumped and diffusive samplers // *Atmos. Environ.* 2003. V. 37. № 7. P. 871.
 6. *Simpson A.T., Wright M.D.* Diffusive sampling of C₇–C₁₆ hydrocarbons in workplace air: Uptake rates, wall effects and use in oil mist measurements // *Ann. Occup. Hyg.* 2008. V. 52. № 4. P. 249.
 7. *Brown V.M., Crump D.R., Gardiner D., Yu C.W.F.* Long-term diffusive sampling of volatile organic-compounds in indoor air // *Environ. Technol.* 1993. V. 14. № 8. P. 771.
 8. *McClenny W.A., Oliver K.D., Jacumin H.H., Daughtrey E.H., Whitaker D.A.* 24 h diffusive sampling of toxic VOCs in air onto Carbo-pack X solid adsorbent followed by thermal desorption/GC/MS analysis—Laboratory studies // *J. Environ. Monit.* 2005. V. 7. № 3. P. 248.
 9. *Hellen H., Hakola H., Laurila T., Hiltunen V., Koskentalo T.* Aromatic hydrocarbon and methyl tert-butyl, ether measurements in ambient air of Helsinki (Finland) using diffusive samplers // *Sci. Total Environ.* 2002. V. 298. № 1–3. P. 55.
 10. *Walgraeve C., Demeestere K., Dewulf J., Van Huffel K., Van Langenhove H.* Diffusive sampling of 25 volatile organic compounds in indoor air: Uptake rate determination and application in Flemish homes for the elderly // *Atmos. Environ.* 2011. V. 45. № 32. P. 5828.
 11. *Jia C., Fu X.* Diffusive uptake rates of volatile organic compounds on standard ATD tubes for environmental and workplace applications // *Environments.* 2017. V. 4. № 4. P. 87.
 12. *Алексеева А.А.* Применение листового опада в качестве основы сорбционного материала при ликвидации аварийных разливов нефти с поверхности воды. Дис. ... канд. техн. наук. Казань: Казанский национальный исследовательский технологический университет, 2017. 159 с.
 13. *Юшкетова Н.А., Поддубный В.А.* Метод пассивного отбора проб для мониторинга химического загрязнения атмосферного воздуха. Ч. 2. Практические аспекты (обзор) // *Экологические системы и приборы.* 2007. № 3. С. 15.
 14. *Помбуева Б.В.* Влияние деятельности нефтедобывающего комплекса на загрязнение земель юго-востока республики Калмыкия. Дис. ... канд. хим. наук. Элиста: Калмыцкий государственный университет им. Б.Б. Городовикова, 2016. 156 с.
 15. *Alfeeli B., Jain V., Johnson R.K., Beyer F.L., Heflin J.R., Agah M.* Characterization of poly(2,6-diphenyl-p-phenylene oxide) films as adsorbent for microfabricated preconcentrators // *Microchem. J.* 2011. V. 98. № 2. P. 240.
 16. *Filipiak W., Filipiak A., Ager C., Wiesenhofer H., Amann A.* Optimization of sampling parameters for collection and preconcentration of alveolar air by needle traps // *J. Breath Res.* 2012. V. 6. № 2. Article 027107.
 17. *Poormohammadi A., Bahrami A., Ghiasvand A.* Preparation of Carbotrap/silica composite for needle trap field sampling of halogenated volatile organic compounds followed by gas chromatography/mass spectrometry determination // *J. Environ. Health Sci. Eng.* 2019. V. 17. P. 1045.
 18. *Kenessov B., Derbissalin M., Koziel J.A., Kosyakov D.S.* Modeling solid-phase microextraction of volatile organic compounds by porous coatings using finite element analysis // *Anal. Chim. Acta.* 2019. V. 1076. P. 73.
 19. *Farshchi N., Abbasian A., Larijani K.* Is inverse gas chromatography (IGC) a convenient method to determine compatibility of rubber materials? // *Chromatographia.* 2019. V. 82. P. 1709.
 20. *İnan S., Tel H., Sert Ş., Çetinkaya B., Sengül S., Özkan B., Altaş Y.* Extraction and separation studies of rare earth elements using Cyanex 272 impregnated Amberlite XAD-7 resin // *Hydrometallurgy.* 2018. V. 181. P. 156.
 21. *Asalieva E., Sineva L., Sinichkina S., Solomonik I., Gryaznov K., Pushina E., Kulchakovskaya E., Gorshkov A., Kulnitskiy B., Ovsyannikov D., Zholudev S., Mordkovich V.* Exfoliated graphite as a heat-conductive frame for a new pelletized Fischer–Tropsch synthesis catalyst // *Appl. Catal. A: General.* 2020. V. 601. Article 117639.
 22. *Ahamad S., Ahmad M., Mehta B.R., Gupta A.* Effect of nano-fillers on capacity retention and rate capability of mesocarbon microbeads anode // *J. Electrochem. Soc.* 2017. V. 164. № 13. P. 2967.
 23. *Bauria R., Surappa M.K.* Processing and properties of Al–Li–SiCp composites // *Science and technology of advanced materials.* 2007. V. 8. № 6. P. 494.
 24. *Бадикова А.Д., Рулло А.В., Аблеев Р.И., Бейгул Н.А., Парамонов Е.А., Алехина И.Е.* Сорбция углеводородных сорбатов, типичных для нефтяных месторождений, на поверхности полимерного адсорбента Tenax // *Вестник Башкирского университета.* 2018. Т. 23. № 4. С. 1074.
 25. *Бадикова А.Д., Рулло А.В., Аблеев Р.И., Масагутов Р.Х., Алехина И.Е.* Анализ почвенно-грунтового воздуха лесной и промышленной зоны методом пассивной адсорбции углеводородов на комбинированном адсорбенте с использованием модуль-сорберов // *Вестник Башкирского университета.* 2019. Т. 24. № 4. С. 852.
 26. *Бадикова А.Д., Рулло А.В., Аблеев Р.И., Масагутов Р.Х., Бейгул Н.А., Журкин О.П., Бежан Д.И.* Углеродный адсорбент в составе модуль-сорбера для исследования пассивной адсорбции углеводородов из модели нефти Баклановского месторождения // *Башкирский химический журн.* 2019. Т. 26. № 4. С. 32.
 27. *Wallace M.A.G., Pleil J.D., Whitaker D.A., Oliver K.D.* Recovery and reactivity of polycyclic aromatic hydrocarbons collected on selected sorbent tubes and analyzed by thermal desorption-gas chromatography/mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2019. V. 1602. P. 19.
 28. *Borusiewicz R.* Chromatographic analysis of the traces of 2-chlorobenzalmalononitrile with passive adsorption from the headspace on Tenax TA and Carbotrap 300 // *Forensic Sci. Int.* 2019. V. 303. Article 109933.
 29. *Cao X., Hewitt N.* Evaluation of Tenax-GR adsorbent for the passive sampling of volatile organic compounds at low concentrations // *Atmospheric Environ.* 1993. V. 27. № 12. P. 1865.

30. *Richter M., Juritsch E., Jann O.* Determination of recovery rates of adsorbents for sampling very volatile organic compounds (C₁–C₆) in dry and humid air in the sub-ppb range by use of thermal desorption gas chromatography-mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2020. V. 1626. Article 461389.
31. *Другов Ю.С., Родин А.А.* Пробоподготовка в экологическом анализе. СПб: Анатолия, 2002. 755 с.
32. *Valderrama C., Cortina J.L., Farran A., Gamisans X., Lao C.* Kinetics of sorption of polyaromatic hydrocarbons onto granular activated carbon and Macronet hyper-cross-linked polymers (MN200) // *J. Colloid Interface Sci.* 2007. V. 310. № 1. P. 35.
33. *Dalas E., Karaiskakis G., Katsanos N.A., Gounaris A.* Reversed-flow gas chromatographic technique applied to measurement of mass transfer coefficients of *n*-hydrocarbons on Porapak P // *J. Chromatogr. A.* 1985. V. 348. P. 339.
34. *Павлюк М.А., Ануфриев О.Н., Пономарева Т.С.* Сорбционные трубки Tenax-ТА как эффективный инструмент при выполнении анализа воздушной среды методом газовой хроматографии // *Изв. ТулГУ. Естественные науки.* 2016. Вып. 4. С. 75.
35. *Ho S.S.H., Chow J.C., Watson J.G., Wang L., Qu L., Dai W., Huang Y., Cao J.* Influences of relative humidities and temperatures on the collection of C₂–C₅ aliphatic hydrocarbons with multi-bed (Tenax TA, Carboxen 1TD, Carboxen 1003) sorbent tube method // *Atmospheric Environ.* 2017. V. 151. P. 45.
36. ГОСТ Р ИСО 16017-2-2007. Воздух атмосферный, рабочей зоны и замкнутых помещений. Отбор проб летучих органических соединений при помощи сорбционной трубки с последующей термодесорбцией и газохроматографическим анализом на капиллярных колонках. Часть 2. Диффузионный метод отбора проб. М: Стандартинформ, 2008. 40 с.
37. *Ott W.R., Steinemann A.C., Wallace L.A.* Exposure Analysis. 1st Ed. Boca Raton: CRC Press, 2006. P. 534.
38. *McDermott H.J.* Air monitoring for toxic exposures. 2nd Ed. N.Y.: John Wiley & Sons, 1991. P. 687.
39. *Стайлз Э.Б.* Носители и нанесенные катализаторы: Теория и практика. М.: Химия, 1991. 232 с.
40. *Poormohammadi A., Bahrami A., Farhadian M., Ghorbani Shahna F., Ghiasvand A.* Development of Carbotrap B-packed needle trap device for determination of volatile organic compounds in air // *J. Chromatogr. A.* 2017. V. 1527. P. 33.
41. *Rothweiler H., Wager P.A., Schlatter C.* Comparison of Tenax-TA and Carbotrap for sampling and analysis of volatile organic compounds in air // *Atmospheric Environ. Part B. Urban Atmosphere.* 1991. V. 25. № 2. P. 231.
42. *Borusiewicz R., Zięba-Palus J.* Comparison of the effectiveness of Tenax TA and Carbotrap 300 in concentration of flammable liquids compounds // *J. Forensic Sci.* 2007. V. 52. № 1. P. 70.
43. *Nunez A.J., Gongalez L.F., Janak J.* Preconcentration of headspace volatiles for trace organic analysis by gas chromatography // *J. Chromatogr.* 1984. V. 300. P. 127.
44. *Sazali N.* A comprehensive review of carbon molecular sieve membranes for hydrogen production and purification // *Int. J. Adv. Manuf. Technol.* 2020. V. 107. P. 2465.
45. *Журавлёва Г.А.* Поверхностно-слоиные сорбенты на основе непористых солей для газоадсорбционного концентрирования и разделения полярных органических соединений. Дис. ... канд. хим. наук. Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет, 2014. 102 с.
46. *Blessing M., Proust E., Fléhoc C.* Customized injection techniques for compound-specific isotope analysis of natural gas samples // *Procedia Earth and Planetary Science.* 2015. V. 13. P. 227.
47. *Мак-Нейр Г.* Введение в газовую хроматографию. М.: Мир, 1970. 277 с.
48. *Майстренко В.Н., Хамитов Р.З., Будников Г.К.* Эколого-аналитический мониторинг супертоксикантов. М.: Химия, 1996. 319 с.
49. *Павлова Л.В., Платонов И.А., Колесниченко И.Н., Новикова Е.А.* Сорбционные микротрубки как образцы состава летучих органических соединений на примере ромашки аптечной (*Chamomilla recutita* R.) // Сорбционные и хроматографические процессы. 2018. Т. 18. № 5. С. 734.
50. *Shibamoto T., Aino K., Hengel M.* Application of Porapak Q Column for a Sample Preparation of Volatile Chemicals from Brewed Coffee // *EC Nutrition.* 2019. V. 14. № 10. P. 880.
51. *Murray K.E.* Concentration of headspace, airborne and aqueous volatiles on Chromosorb 105 for examination by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 1977. V. 135. № 1. P. 49.
52. *Volden J., Thomassen Y., Greibrokk T., Thorud S., Møllander P.* Stability of workroom air volatile organic compounds on solid adsorbents for thermal desorption gas chromatography // *Anal. Chim. Acta.* 2005. V. 530. № 2. P. 263.
53. *Lamaa L., Ferronato C., Fine L., Jaber F., Chovelon J.* Evaluation of adsorbents for volatile methyl siloxanes sampling based on the determination of their breakthrough volume // *Talanta.* 2013. V. 115. P. 881.
54. *Другов Ю.С., Беликов А.Б., Дьякова Г.А., Тульчинский В.М.* Методы анализа загрязнений воздуха. М.: Химия, 1984. 384 с.
55. *Каменщиков Ф.А., Богомольный Е.И.* Нефтяные сорбенты. Москва–Ижевск: Регулярная и хаотическая динамика, 2005. 268 с.
56. *Ghalichi Z.Z., Bahrami A., Ghorbani S.F., Farhadian M.* Application of a needle trap device packed with XAD-2 polyaniline composite for sampling naphthalene and phenanthrene in air // *J. Chromatogr. A.* 2019. V. 1602. P. 74.
57. *Жебеняев А.И.* Токсикологическая химия. Часть 2. Витебск: ВГМУ, 2015. 415 с.
58. ГОСТ Р ИСО 12884-2007. Воздух атмосферный. Определение общего содержания полициклических ароматических углеводородов (в газообразном состоянии и в виде твердых взвешенных частиц). Отбор проб на фильтр и сорбент с последующим анализом методом хромато-масс-спектрометрии. М.: Стандартинформ, 2008. 38 с.

59. *Demets R., Roosen M., Vandermeersch L., Ragaert K., Walgraeve C., De Meester S.* Development and application of an analytical method to quantify odour removal in plastic waste recycling processes // *Resources, Conservation and Recycling*. 2020. V. 161. Article 104907.
60. *Nischang I.* Porous polymer monoliths: morphology, porous properties, polymer nanoscale gel structure and their impact on chromatographic performance // *J. Chromatogr. A*. 2013. V. 1287. P. 39.
61. *Авдеев В.В., Савченко Д.В., Афанасов И.М., Свиридов А.А., Сорокина Н.Е., Матвеев А.Т., Селезнев А.Н., Годунов И.А., Ионов С.Г.* Способ получения электронагревательного элемента и электронагревательный элемент. Патент РФ № 2387106. Заявка 2009106484/09 от 26.02.2009, опублик. 20.04.2010.
62. *Regufe M.J., Ferreira A.F.P., Loureiro J.M., Rodrigues A., Ribeiro A.M.* Electrical conductive 3D-printed monolith adsorbent for CO₂ capture // *Micropor. Mesopor. Mater.* 2019. V. 278. P. 403.
63. *Сотникова Ю.С.* Приготовление и исследование хроматографических свойств монолитных колонок для ВЭЖХ с новыми неподвижными фазами на основе гетероциклических азотсодержащих соединений. Дис. ... канд. хим. наук. Новосибирск: Институт катализа СО РАН, 2020. 156 с.
64. *Родинков О.В., Москвин Л.Н.* Поверхностно-слойные композиционные сорбенты для экспрессного концентрирования летучих органических веществ из водных и газовых сред // *Журн. аналит. химии*. 2012. Т. 67. № 10. С. 908. (*Rodinkov O.V., Moskvina L.N.* Surface-layer composite sorbents for the rapid pre-concentration of volatile organic substances from aqueous solutions and gas atmospheres // *J. Anal. Chem.* 2012. V. 67. № 10. P. 814.)
65. *Cabrera K.* Applications of silica-based monolithic HPLC columns // *J. Sep. Sci.* 2004. V. 27. P. 843.
66. *Svec F.* Porous polymer monoliths: Amazingly wide variety of techniques enabling their preparation // *J. Chromatogr. A*. 2010. V. 1217. P. 902.
67. *Sato A., Terashima H., Takei Y.* Monolith adsorbent and method and apparatus for adsorbing samples with the same. Patent № US-8795410-B2. Appl. № 12/665612 of 18.07.2007, pub. date 03.02.2011.
68. *Al-Rifai A., Aqel A., Wahibi L.A., AlOthman Z.A., Badjah-Hadj-Ahmed A.* Carbon nanotube-based benzyl polymethacrylate composite monolith as a solid phase extraction adsorbent and a stationary phase material for simultaneous extraction and analysis of polycyclic aromatic hydrocarbon in water // *J. Chromatogr. A*. 2018. V. 1535. P. 17.
69. *Huang X.H., Song J.J., Li H., Gong M.T., Zhang Y.* Selective removal of nicotine from the main stream smoke by using a surface-imprinted polymer monolith as adsorbent // *J. Hazard. Mater.* 2018. V. 365. P. 53.

УДК 543.552+543.87

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В ВОДНО-ОРГАНИЧЕСКИХ И ДИСПЕРСНЫХ СРЕДАХ С ПОМОЩЬЮ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА

© 2021 г. Г. А. Евтюгин^а, *, **, А. В. Порфирьева^а

^аХимический институт им. А.М. Бутлерова Казанского (Приволжского) федерального университета
ул. Кремлевская, 18, Казань, 420008 Россия

*e-mail: Gennady.Evtugyn@kpfu.ru

**e-mail: gevtugyn@gmail.com

Поступила в редакцию 21.04.2021 г.

После доработки 16.05.2021 г.

Принята к публикации 17.05.2021 г.

Рассмотрены возможности электрохимического анализа при определении органических соединений в водно-органических и дисперсных средах. Определены основные факторы, влияющие на электрохимические характеристики аналитов, и вклад природы растворителя в операционные и аналитические характеристики соответствующих сенсоров. Приведены примеры реализации преимуществ электрохимического анализа на примере использования гомогенных водно-органических растворов, эмульсий органических растворителей и отдельных капель на границе электрод–раствор. Также рассмотрены примеры биосенсоров, функционирующих в присутствии органических растворителей.

Ключевые слова: электрохимический сенсор, вольтамперометрическое определение органических соединений, микроэмульсии, анализ в капле, электрохимические биосенсоры.

DOI: 10.31857/S0044450221100054

Современный этап развития электроаналитической химии характеризуется повышенным вниманием к биологическим объектам анализа — метаболитам, биомаркерам заболеваний, лекарственным препаратам, компонентам биологических добавок, витаминам и антиоксидантам [1–4]. Это в значительной степени обусловлено большими возможностями практического применения электроанализа, связанными с развитой теорией, существующими эффективными подходами к повышению чувствительности определения указанных аналитов за счет модификации электродов, а также с наличием компактного удобного измерительного оборудования, в том числе работающего автономно и в сочетании с проточными и полуавтоматизированными средствами измерения [5, 6]. Однако по сравнению с определением металлов определение органических соединений по их реакциям окисления–восстановления на электродах имеет ряд сложностей, связанных с образованием нерастворимых продуктов, блокирующих поверхность электрода [7], неоднозначностью путей превращения промежуточных соединений, склонностью аналитов к агрегации и образованию гетерогенных систем, снижающих качество сигнала и его чувствительность. Пассивация

электродов может быть снижена путем использования медиаторов электронного переноса. В то же время ограничения растворимости и формирования микрогетерогенных систем в анализируемом растворе связаны с фундаментальными свойствами органических соединений — их липофильностью, низкой растворимостью в воде, склонностью к мицеллообразованию и автоагрегации.

Использование органических растворителей — очевидный путь повышения растворимости органических соединений-аналитов. Однако он чреват усложнением протокола измерения, требует подготовки больших объемов чистых органических растворителей и органических солей, используемых в качестве индифферентных электролитов. Кроме того, электрохимические реакции в органических растворителях могут протекать по механизмам, далеким от реакций тех же соединений в воде и в биохимических циклах *in vivo*. Это снижает привлекательность электрохимических методов анализа, поскольку электродные реакции органических соединений часто рассматриваются как модели их поведения в реальных биологических системах.

Использование водно-органических систем — компромисс между требованиями к достижению растворимости и гомогенности раствора аналита, с одной стороны, и необходимости сохранения преимущественно водной (гидрофильной) среды, с другой. С точки зрения методологии эксперимента, такие системы незначительно отличаются от чисто водных растворов электролитов. Стадии диспергирования/насыщения воды органическими растворителями, ограниченно смешивающимися с водой, и тем более приготовления водных смесей с растворителями, смешивающимися с водой в любых отношениях, большой проблемы не представляют. С другой стороны, низкие расходы органического растворителя не влияют на утилизацию отработанных растворов и выполнение иных требований, связанных с концепцией “зеленой химии” и возможностями проведения измерений вне лабораторной базы. В данном обзоре рассмотрены основные примеры успешного использования водно-органической и дисперсной сред при электрохимическом определении органических соединений с особым вниманием к электрохимическим аспектам включения органических растворителей. В обзоре не рассматриваются примеры использования органических растворителей на стадии получения модифицирующих покрытий, если последующее измерение электрохимического сигнала происходит в традиционном (водном) электролите. Также вне рамок обзора остались системы с использованием в качестве сигнала ионного тока переноса аналита на границе жидкость/жидкость. Несмотря на то, что в таких системах в качестве аналитов применяются органические лиганды для комплексообразования ионов металлов или органические ионы, специфика сигналообразующих процессов заслуживает в этом случае самостоятельного обзора.

Гомогенные водно-органические системы. Использование органических растворителей для повышения растворимости органических соединений является, по-видимому, одним из старейших приемов расширения возможностей определения органических соединений электрохимическими методами. Поскольку многие органические соединения ограниченно растворимы в воде, естественно использовать водно-органические растворы, содержащие полярные органические растворители, увеличивающие растворимость аналита. В этом случае речь идет об истинных растворах с содержанием органического растворителя 5–80 об. %. Во многих случаях органические растворители достаточно летучи (ацетон, метанол, этанол), что создает методические проблемы обеспечения постоянства состав

раствора в процессе измерения, особенно при деаэрировании раствора током инертного газа. Состав водно-органических растворов может также соответствовать условиям, ранее описанным для определения тех же соединений методами ВЭЖХ или капиллярного электрофореза. Совместимость таких растворов с условиями электрохимического эксперимента принимается априорно. Однако есть исключения. Так, ацетонитрил способен к частичному гидролизу и поликонденсации с образованием олигомерных продуктов, пассивирующих электрод. Сообщалось о способности нитрильных растворителей влиять на электрохимические процессы, протекающие при восстановлении гидрохинона [8]. Диметилформамид (ДМФА) неустойчив в анодной области потенциалов, но подходит при регистрации токов восстановления.

Влияние органических растворителей на характеристики электрохимического определения органических соединений, помимо повышения их растворимости, связано с изменением гидрофильно-гидрофобного баланса на границе электрод–раствор, с общим снижением диэлектрической проницаемости раствора, а также с изменением скорости процессов протонирования–депротонирования промежуточных продуктов переноса электрона. Устойчивость материала электрода также зависит от природы органического растворителя. Например, угольно-пастовый электрод на основе силиконового масла показал лучшие характеристики при определении электрохимических характеристик ряда фенотиазиновых препаратов, включая феназепам, чем его аналог, включающий в качестве компонента пасты нуйол [9]. Авторы связывают это со способностью нуйола сорбировать метанол из водно-органической фазы. Исследования в 50%-ном метаноле показали обратимые пики окисления–восстановления исходных фенотиазинов и продуктов их химического нитрования. При этом авторы отмечают, что аналогичные измерения в водной среде имеют более высокую чувствительность к исследованным органическим соединениям.

В отсутствие ограничений переноса иона водорода низкие концентрации органических растворителей незначительно влияют на положение и высоту пиков окисления–восстановления аналита, несколько увеличивая необратимость стадии переноса электрона и перенапряжение переноса электрона. Исходные растворы аналита обычно готовят в полярном органическом растворителе, смешивающимся с водой (метанол, ацетонитрил), далее для построения градуировочной зависимости их кратно разбавляют водным раствором электролита, содержащим до 10 об. % того же или иного растворителя, препят-

ствующего выделению твердой фазы аналита из получаемого разбавленного раствора. Электрохимическое поведение аналитов априорно принимается таким же, как и в водной среде, но проверить это зачастую не удается или считается излишним. В качестве исключения можно привести исследование анодного окисления диэтилдитиокарбамина в щелочной среде в воде и в водном этаноле. Если в 0.1 М растворе NaOH окисление протекает с переносом одного электрона на молекулу аналита с последующей димеризацией и выделением из нее сульфид-иона, то в присутствии органического растворителя электродная реакция протекает с переносом уже двух электронов [10]. Другой пример прямого сравнения электрохимического поведения аналита в органическом и водно-органическом растворителе – определение линдана в ДМФА, ацетонитриле, метаноле и их 50%-ных смесях с водой [11]. В качестве фонового электролита во всех случаях использовали тетрафторборат тетрабутиламмония. Восстановление линдана на серебряном электроде протекало при (-0.90) –1.40 В. По данным препаративного электролиза электродный процесс предполагает перенос шести электронов и образование бензола с выходами в диапазоне 60–100%. В чистом ацетонитриле и этаноле зафиксировано также образование значительных количеств хлорбензола. В присутствии воды выход бензола увеличивался.

Полиароматические соединения определяли по току их окисления на стеклоуглеродном и угольно-пастовом электродах [12]. Измерения проводили в серной кислоте, содержащей 20 об. % метанола (нафталин) или 25 об. % ацетонитрила (флуорен и антрацен). Пределы обнаружения (c_{lim}) составили 12, 6.4 и 1.2 мкМ для нафталина, флуоренона и антрацена соответственно. Электростатическое накопление флуорена на анодно поляризованном электроде снижало указанное значение до 0.2 мкМ. Близость потенциалов пиков на дифференциально-импульсных вольтамперограммах не позволила одновременно определять все три аналита: более летучий нафталин может быть удален из смеси при выпаривании экстракта.

Витамины D_2 (эргокальциферол) и D_3 (холекальциферол) определяли на стеклоуглеродном электроде в 40%-ном водном этаноле [13]. Помимо этанола, исследования проводили в присутствии ацетонитрила и дихлорметана, однако данные растворители показали более высокие потенциалы пика окисления аналитов. Значение c_{lim} составило 0.113 и 0.118 мМ соответственно. Интервалы линейности градуировочных графиков

оказались достаточно узкими: 1.0–10 мкМ для витамина D_2 и 6.0–50 мкМ для витамина D_3 . Не установлено мешающего влияния на сигнал витаминов А, Е и К.

Ретинол (витамин A_1), ретинол ацетат и пальмитат определяли на угольно-пастовом электроде, содержащем додецилсульфат натрия, после его сорбционного накопления из органических и водно-органических растворов [14]. Наилучшие результаты были достигнуты при использовании 50–80% ацетонитрила в ацетатном буферном растворе. В режиме дифференциально-импульсной вольтамперометрии метод позволяет определять 1.5 мкА–0.18 мА ретинола (c_{lim} 0.46 мкМ). Отмечены сходство вольтамперограмм, полученных на угольно-пастовом и стеклоуглеродном электродах, и возможность определения только суммарного содержания всех форм ретинола без их разделения на индивидуальные соединения.

Канабидиол окисляли в смеси ацетонитрила и универсального буферного раствора (1 : 1) на стеклоуглеродном электроде [15]. Процесс носил необратимый характер. Регистрируемые с помощью дифференциально-импульсной вольтамперометрии токи пика увеличивались при переходе от кислой к щелочной области рН. Модификация электрода углеродной чернью стабилизировала и увеличивала аналитический сигнал. Разработан метод проточно-инжекционного определения канабидиола из конопляного масла и листьев конопли в потоке 30%-ного метанола в интервале концентраций 0.2–2 мг/л. Референсным методом служила хромато-масс-спектрометрия.

Краситель дисперсный красный 13 определяли на стеклоуглеродном электроде в 50%-ной смеси универсального буферного раствора и ДМФА [16]. Для определения красителя использовали необратимый пик катодного восстановления, отнесенный к протонированной нитрогруппе. Модификация электрода полиглутаминовой кислотой повышала чувствительность определения. В оптимальных условиях электрод позволял проводить определение красителя в интервале концентраций от 0.25 до 3.0 мкМ (c_{lim} 15 нМ).

Введение значительных количеств органических растворителей неизбежно увеличивает омическое падение напряжения в растворе и снижает диэлектрическую проницаемость раствора, что неблагоприятно влияет на морфологию вольтамперных кривых, повышает фоновые токи и уширяет пики окисления/восстановления. Вывод о природе факторов, определяющих влияние органического растворителя, неочевиден. Например, при исследовании цитохрома С в системах вода–

органический растворитель (ДМФА, ацетонитрил, метанол, пропанол) вывод о преимущественном влиянии диэлектрических свойств среды был сделан по термодинамическим характеристикам переноса электрона, установленным по величине равновесного потенциала и его температурной зависимости [17]. Тот же анализ демонстрировал денатурацию в присутствии диметилсульфоксида (ДМСО), выявляемую по снижению тока пика на вольтамперограммах, зарегистрированных на золотом электроде [18].

Другой электрохимически активный белок – миоглобин, будучи адсорбирован на поверхности стеклоуглеродного электрода, показал устойчивость электрохимических характеристик в присутствии 30%-ного этанола [19]. Стабилизатором водно-органического раствора белка являлся полисахарид глюкоманнан. Электрод с адсорбированным миоглобином использовали для чувствительного определения органических пероксидов, пероксида водорода, оксида азота(II) и полихлорированных алканов по токам их медиаторного восстановления. Влияние органического растворителя на электрохимическую активность миоглобина подробно рассмотрено в работе [20]. Показано, что введение в раствор спиртов вызывает частичную денатурацию молекул миоглобина, адсорбированных на стеклоуглеродном электроде. Структурные изменения были подтверждены данными фотоэлектронной рентгеновской спектроскопии и эллипсометрии. Толщина белковой пленки на электроде увеличивалась в присутствии спиртов. В совокупности с сокращением расстояния переноса электрона это вызывало увеличение электроактивности миоглобина на 60% (под данным дифференциально-импульсной вольтамперометрии). В наибольшей степени изменения были заметны в присутствии смеси этанола и *n*-пропанола.

В случае нитрофурильного производного 1,4-дигидропиридина целью применения органического растворителя, смешивающегося с водой, был контроль протогенной активности среды [21]. Молекулы анализа содержали два потенциальных редокс-центра, – нитрофурильную и дигидропиридиновую группы. При $pH < 9$ катодное восстановление протекало с переносом четырех электронов. Однако в более щелочной среде число пиков на вольтамперограммах, как и соотношение токов пика, зависело от выбранной области сканирования потенциала и природы добавляемого растворителя (ацетонитрил, ДМСО, до 60% этанола в объеме). Низкая протогенная активность смешанного раствора способствовала проявлению сигнала анион-радикала на нитрогруппе, а восстановление нитрофуранового фраг-

мента зависело от характера окислительных процессов на обратной ветви циклической вольтамперограммы.

Коэнзимы Q_{10} и Q_0 восстанавливали на стеклоуглеродном электроде в уксусной кислоте, содержащей ацетонитрил [22]. Механизм включает две последовательные стадии переноса иона водорода и электрона с промежуточным образованием неустойчивого радикала семихинона. Механизм согласуется с установленным ранее в водных щелочных средах при $pH 12.0$. Длина углеродного радикала коэнзима слабо влияла на его электрохимическую активность. Обратимость процесса переноса первого электрона создавала условия регистрации коэнзимов в биохимических реакциях, а установленные термодинамические значения потенциалов отдельных стадий позволяют использовать электрохимические данные для обсуждения поведения коэнзимов в живой клетке. Полученные результаты были впоследствии использовали для определения коэнзима Q_{10} на серебряном электроде в водном этаноле [23]. Анализ давал пару обратимых пиков на вольтамперограммах в отсутствие растворенного кислорода и необратимый пик в его присутствии. Этанол наряду с молекулярным кислородом участвовал в цепи переноса электрона, реагируя с радикалом, образующимся при отрыве иона водорода от продукта первичного переноса электрона. В режиме дифференциально-импульсной вольтамперометрии ток пика линейно зависел от концентрации коэнзима Q_{10} в интервале концентраций 0.1 мкМ–1.0 мМ ($c_{lim} 33.3$ нМ). Сенсор опробовали при анализе экстрактов из рыбных, мясных и растительных проб, и он показал высокую сходимость результатов с данными газо-жидкостной хроматографии.

Электрохимические свойства и влияние на них органических растворителей также изучали для гомогентизиновой кислоты в водном ацетонитриле [24], коричной кислоты в водном ДМФА [25, 26], алкилгетеросульфонов в 20–80%-ном ДМСО [27], парабенов в смеси уксусная кислота–ацетонитрил [28], нитрофенилгликозидов в водном метаноле [29], холестерина в водном этаноле [30].

Экзотичным примером использования водно-органических сред можно считать определение нерастворимых в воде антиоксидантов (каротин, токоферол, 4,4,4-трифтор-3-метил-2-бутеновая кислота и мелатонин) по их влиянию на химический осциллятор Белоусова–Жаботинского [31]. Колебательную реакцию контролировали потенциометрически и с помощью циклической вольтамперометрии, для солиubilизации антиоксидантов использовали смеси акрилонитрила и ДМФА в серной кислоте.

Микроэмульсии. Линдман и соавт. [32] определили микроэмульсии как дисперсные системы, включающие воду, масло и поверхностно-активное вещество (ПАВ), которые спонтанно образуют изотропный, прозрачный и термодинамически стабильный раствор. Многие микроэмульсии, нашедшие применение в электроанализе, были разработаны для доставки гидрофобных молекул лекарств и улучшения растворимости фармацевтических препаратов и красителей.

Эмульгирование органического экстракта может рассматриваться как простейший способ совершенствования методики определения, предусматривающей экстракцию аналита в органический растворитель. Однако число таких методик невелико. В качестве примера можно привести полярографическое определение двух гербицидов сртриазинового ряда – азипротрина (2-азидо-4-изопропиламино-6-метилтио-1,3,5-триазина) и десметрина (4-изопропиламино-6-метиламино-2-метилтио-1,3,5-триазина) [33]. Эмульсию этилацетата готовили в присутствии 0.1%-ного пентансульфоната натрия. Сигналом служил ток катодного восстановления триазинов. Способ позволяет определять от 0.1 мкМ до 0.1 мМ гербицидов (c_{lim} 45 и 66 нМ азипротрина и 66 нМ десметрина).

Описано [34] определение таншинона ПА, биологически активного вещества растительного происхождения, применяемого в качестве иммуномодулятора и антиоксиданта, в микроэмульсии, образованной триглицеридом каприловой и каприновой кислот в присутствии эмульгаторов полисорбата 80 и Kolliphor® HS 15. Установлены влияние детергентов на скорость переноса электрона и возможность прямого определения препарата без разрушения микроэмульсий в интервале концентраций от 0.2 до 1.2 мкг/л (c_{lim} 50.25 нг/мл).

Витамины С и Е вводили в микроэмульсии типа “масло в воде” в присутствии 1–77% пентанола (эмульгатор додецилсульфат натрия) и 10–80% бутанола (эмульгатор цетилтриметиламмоний бромид) [35]. Включение аскорбиновой кислоты в эмульсии ускоряло ее окисление растворенным кислородом в степени, увеличивающейся с ростом доли органического растворителя в системе. Кроме того, витамин С ускорял аналогичное разложение присутствующего в его растворе витамина Е. В отсутствие органического растворителя повышение концентрации ПАВ стабилизировало растворы указанных витаминов. В дальнейшем исследовали электрохимическое окисление аскорбиновой кислоты и установили лимитирующее влияние рН на скорость ее окисления [36].

Введение этанола (1 : 1) и ацетонитрила (2 : 3) в буферный раствор увеличивало потенциалы пика окисления и снижало ток пика. Электрохимические параметры окисления в слабокислой среде малочувствительны к присутствию в растворе ПАВ.

Интересный способ оценки антиоксидантных свойств оливкового масла и установления его торговой марки предложен в работе [37]. Для этого разработали массив вольтамперометрических сенсоров типа “электронный язык”, состоящий из печатных графитовых электродов, покрытых различным образом допированным полипирролом. Полимерное покрытие получали путем электролиза. Эмульсии готовили, диспергируя масло в растворе додецилсульфата натрия. На циклических вольтамперограммах регистрировали широкий обратимый пик окисления–восстановления полипиррола, параметры которого зависели от сорта масла и добавок в него модельных антиоксидантов. Образцы масла классифицировали по стандартным образцам с помощью проекций главных компонент. Критерием дискриминации служило значение полного полифенольного индекса. Способ показал возможность надежного предсказания данного параметра, референсным методом служил стандартный способ определения антиоксидантов Фолина–Чокальтеу. Влияние эмульгирования масла на стадии подготовки к измерению вольтамперограмм на результаты тестирования не обсуждалось.

Анализ в капле. Электрохимические методы анализа широко применяются для анализа окислительно-восстановительных процессов, протекающих в капле на поверхности электрода, погруженного в раствор электролита [38]. Такие исследования имитируют многие природные и биохимические процессы, протекающие в микродисперсных системах [39]. Примером могут служить реакции в клетке с участием микровезикул или концентрирование в капле воды электрохимически активных растворимых газов в атмосферном воздухе. Параметры окислительно-восстановительных процессов измеряют в единичной капле, множестве разделенных капель или тонком слое органической жидкости, находящейся на индикаторном электроде. Объем капли обычно составляет от нескольких десятых до десятков микролитров, площадь электрода – менее 1 мм². Органическая фаза состоит из нитробензола и аналогичных полярных органических растворителей, способных удерживать достаточные количества электрохимически активных соединений. Противоелектрод и электрод сравнения могут размещаться во второй жидкой фазе или вводить-

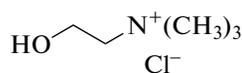
ся в ту же каплю на индикаторном электроде, изготовленном из достаточно гидрофобного материала, например полированного высокоориентированного графита. Пленка органического вещества содержит растворенный редокс-индикатор, такой как ферроцен [40] или производные порфирина [41]. Водная фаза может содержать металлоцианаты, сигнал которых используется для интерпретации регистрируемых токов, или традиционные индифферентные фоновые электролиты. Для предотвращения вымывания медиатора из капли использовали электрополимеризацию или ковалентную пришивку медиатора к полимеру. Аналогичным образом организованы системы типа “вода в масле”, когда водный раствор электрохимически активного вещества (гидрохинон [42]) диспергирован в органическом растворителе. Окислительно-восстановительная реакция генерирует ток переноса иона через границу вода/органическая фаза, который фиксируется на индикаторном электроде [43]. Для компенсации изменения заряда фаз в них вводят соли фоновых электролитов, которые сами не могут переноситься через границу раздела фаз. Подобные системы не нашли широкого применения при электрохимическом определении небольших органических молекул, однако оказались перспективными при определении белков [44] и ДНК [45], участвующих в трансграничном переносе заряда индикаторных ионов. Вместе с тем продолжают активно исследоваться системы, включающие множества микрокапель органической фазы в порах инертных носителей, контактирующих с водной средой. Такие системы показали перспективность применения в электрооптических методах анализа, например, при определении заряженных молекул некоторых пестицидов (1,3-ди(карбамоилтио)-2-диметиламинопропан, аминоэтилфосфоновая кислота, 4-нитро-1Н-пиразол-3-карбоновая кислота, 3,5-дихлорфенол) [46] или при определении комплексов металлов с переменной валентностью [47]. Инертная пористая матрица облегчает манипулирование сенсором, поскольку механически защищает капли от их слияния или удаления с поверхности электрода.

Хотя пока перспективность использования микрокапель в формате электрохимического анализа неочевидна, этот способ хорошо укладывается в стратегию формирования и эксплуатации микрофлюидных устройств. Примером подобного подхода может служить устройство, изготавливаемое с помощью 3D печати, в котором электроды выполняют функции генератора и “счетчика” микрокапель масла или воды из компактной фазы, содержащей низкие концентрации детерген-

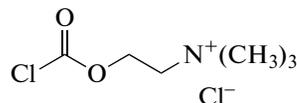
та [48]. Измеряемым параметром является изменение электропроводности в микроканалах. Устройство может найти применение в обеспечении и контроле доставки лекарственных препаратов и исследовании их фармакокинетики.

Глубокие эвтектические растворители и ионные жидкости. Глубокие эвтектические растворители рассматриваются как альтернатива неводным органическим растворителям и в определенной степени ионным жидкостям в различных областях, таких как электрохимический синтез полимеров [49], модификация электродов соединениями металлов [50], металлизация различных поверхностей [51], включая электрополировку гальванических покрытий [52], экстракция аналитов и др. [53]. В отличие от ионных жидкостей, синтез глубоких эвтектических растворителей в большей степени удовлетворяет принципам “зеленой химии”. Он не требует токсичных реагентов, а сам продукт не содержит побочных токсичных примесей, нивелирующих преимущества использования. Как правило, для получения глубоких эвтектических растворителей берут смесь как минимум двух веществ в стехиометрическом соотношении, близком к требуемому для получения их эвтектики [54]. Глубокие эвтектические растворители обычно состоят из акцептора и донора водородной связи, например холин хлорида и мочевины (глицерина, этиленгликоля). Другие варианты, реже применяемые в электрохимии — это сочетание кислот Льюиса (хлориды цинка, алюминия, магния, хрома(III), олова(II)) и кислот Бренстеда (трифлат-анион, карбоновые кислоты, лимонная кислота). Помимо этого выделяют так называемые природные глубокие эвтектические растворители и терапевтические глубокие эвтектические растворители. Это смеси метаболитов, которые накапливаются в больших количествах в клетках и играют роль криопротекторов, протекторов обезвоживания и т.д. Растворимость многих промежуточных соединений биохимических циклов в таких системах выше, чем в воде. В перспективе — применение таких систем в парфюмерной и пищевой промышленности. Глубокие органические растворители готовят, смешивая компоненты при незначительном нагреве и перемешивании. Они имеют температуру плавления от 10–20 до –70°C и плотность в 1.1–1.6 раз больше плотности воды. Структурные формулы соединений — компонентов глубоких эвтектических растворителей приведены на схеме 1.

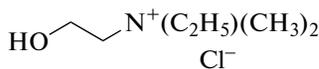
Акцепторы водородной связи



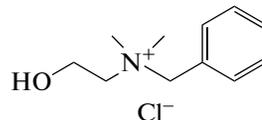
Холин хлорид



2-(Хлоркарбонилокси)-N,N,N-триметиламмоний хлорид

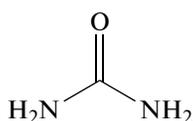


N-этил-2-гидрокси-N,N-диметиламмоний хлорид

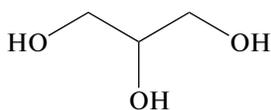


N-бензил-2-гидрокси-N,N-диметиламмоний хлорид

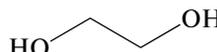
Доноры водородной связи



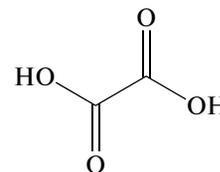
Мочевина



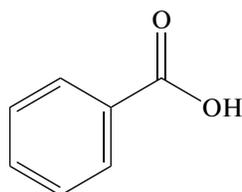
Глицерин



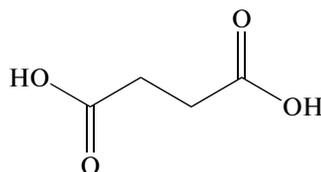
Этиленгликоль



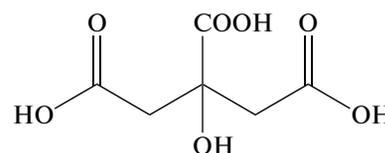
Щавелевая кислота



Бензойная кислота



Янтарная кислота



Лимонная кислота

Схема 1. Компоненты глубоких эвтектических растворителей, используемых в электрохимии и электрохимическом анализе.

Природный глубокий эвтектический растворитель, включающий 10%-ную молочную кислоту, глюкозу и воду, использовали для повышения чувствительности определения олеuropeина в сложных растительных матрицах. Измерения проводили на графитовом электроде, покрытом дисперсией оксида графена и многостенных углеродных нанотрубок, с помощью дифференциально-импульсной вольтамперометрии. Использование добавки увеличило ток окисления аналита в 5.3 раза относительно аналогичного измерения в буферном растворе на немодифицированном электроде. Градуировочная зависимость линейна в интервале концентраций от 0.1 до 37 мкМ (предел обнаружения 30 нМ). Сенсор опробован при анализе экстрактов из листьев оливкового дерева, полученные результаты сравнивали с данными капиллярного зонного электрофореза [55].

Сходный по составу растворитель из молочной кислоты, глюкозы, лимонной кислоты и воды использовали для определения кверцетина на печатном графитовом электроде [56]. В зависимости от

соотношения компонентов глубокого эвтектического растворителя увеличение сигнала — тока пика окисления кверцетина — составило до 100% относительно аналогичного сигнала в буферном водном растворе. Сенсор позволяет проводить определение 0.026–7 мкМ кверцетина (предел обнаружения 7.97 нМ). Метод прошел апробацию при определении антиоксиданта в различных сортах лука.

Кверцетин также определяли на графитовом электроде, модифицированном многостенными углеродными нанотрубками, в 5%-ном глубоком эвтектическом растворителе на основе холин хлорида и мочевины (мольное соотношение 2 : 1) [57]. Сигналом служил ток пика окисления кверцетина при 0.42 В в дифференциально-импульсном режиме измерения, пропорциональный концентрации аналита в интервале от 9.95×10^{-7} М до 4.76×10^{-5} М (предел обнаружения 36 нМ).

Предложена методика определения антиоксидантов в оливковом масле холодного отжима на планарных одноразовых стеклоглеродных элект-

тродах, модифицированных частицами диоксида титана и углеродных нанотрубок в пленке нафиона [58]. Сигнал измеряли методом квадратно-волновой вольтамперометрии в экстракте, полученном с помощью глубокого эвтектического растворителя состава молочная кислота, глюкоза и вода в молярном отношении 6 : 1 : 6 без использования других органических растворителей. В качестве эталонных антиоксидантов были выбраны кофейная и ванилиновая кислоты. Метод апробирован также при определении токоферола в масле подсолнечника, кукурузы и сои.

Гибридный электрохимический и оптический сенсор на 2,4,6-тринитротолуол предложен в работе [59]. В нем используется электрохимическое восстановление комплекса Мейзенгеймера, протекающее в глубоком эвтектическом растворителе на основе *n*-бутиламина. Интервал определяемых концентраций составил 0.63–1.81 мкМ, а

коэффициент селективности относительно пикриновой кислоты и динитротолуолов – до 10^4 . Растворитель этилин готовили, смешивая холин хлорид и этиленгликоль в мольном отношении 1 : 2 с последующим добавлением 20 об. % *n*-бутиламина. Рабочий электрод представлял собой стекло с прозрачным слоем оксида олова, допированного фтором (FTO). Сигналом служило поглощение продуктов восстановления, которое регистрировали при 512 нм.

Ионные жидкости – органические солеобразные соединения с температурами плавления в интервале 0–100°C. Как правило, они состоят из одного объемного гидрофобного иона (обычно катиона) и небольшого гидрофильного противоиона. Примеры ионных жидкостей, нашедших применение в электрохимическом анализе, приведены на схеме 2.

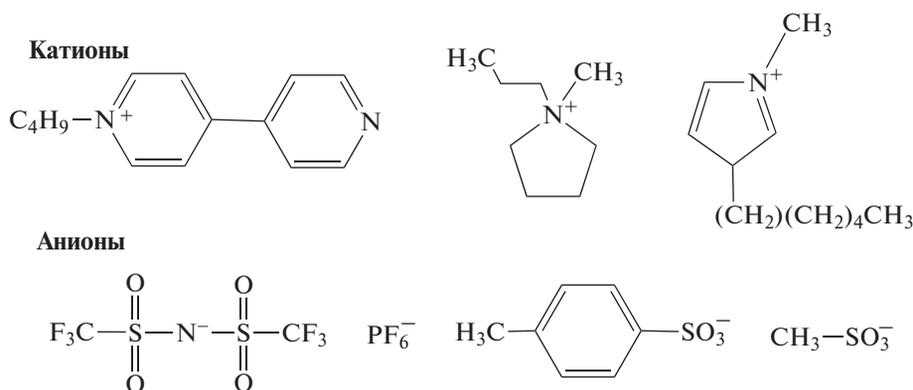


Схема 2. Компоненты ионных жидкостей, применяемых в составе электрохимических сенсоров и средообразующих компонентов.

Благодаря ионной проводимости и низкой температуре плавления ионные жидкости нашли применение в составе ионселективных электродов, пластификаторов пастовых вольтамперометрических сенсоров [60, 61], гелеобразователей [62], компонентов модифицирующих слоев углеродных наноматериалов [63] и соединений металлов с переменной валентностью [64]. В зависимости от природы составляющих ионов и способа применения ионные жидкости могут также способствовать электрополимеризации различных органических соединений [65], облегчать диспергирование графита на стадии получения оксида графена и его последующего восстановления [66]. Кроме того, ионные жидкости могут включать электрохимически активные ионы, участвующие в реакции переноса электрона [67, 68].

Помимо изготовления электрохимических сенсоров и участия в генерации их сигнала ионные жидкости могут служить компонентами растворов аналитов для улучшения их растворимости и

предотвращения агрегации на индикаторном электроде. Описано применение солубилизированных ионных жидкостей на основе холина и ПАВ для высокочувствительного определения этилпарабена [69]. Указывается, что растворение аналита в указанных системах позволяет избежать агрегации этилпарабена на поверхности электрода, увеличивает пик окисления аналита на стеклоуглеродном электроде, покрытом полианилином и наночастицами золота, и улучшает метрологические характеристики его определения. Сенсор позволяет определять с помощью дифференциально-импульсной вольтамперометрии от 0.1 до 5.10 нМ этилпарабена (предел обнаружения 0.1 нМ). Наилучшие результаты достигнуты в присутствии холин хлорида. Сенсор апробирован на примере определения этилпарабена в косметическом средстве.

Разработан тонкопленочный сенсор на основе оптически прозрачного электрода ITO (оксиды индия и олова) с пленочными электродами, со-

единенными тонким слоем ионной жидкости (1-бутил-3-метилимидазолий гексафторфосфат) [70]. Определяемыми веществами являлись пары нитроароматических соединений – взрывчатых веществ (2,4,6-тринитротолуол, пикриновая кислота и 2,4-динитротолуол), сорбируемых из газовой фазы в слое ионной жидкости и далее восстанавливаемых на электроде. Продукты электровосстановления дополнительно регистрировали по их цвету с использованием УФ-спектроскопии. Разложение цветов по спектру RGB повысило чувствительность определения. Оценка чувствительности определения исходила из разрешения и уровня шума светодиода LED как регистрирующего устройства и составила до нескольких мкг/м³.

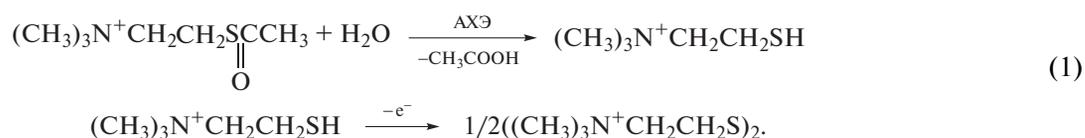
Особенности применения ионных жидкостей в составе электродов или модифицирующих слоев электродов в вольтамперометрическом определении органических соединений рассмотрены в обзоре [71]. Отмечается повышение чувствительности и селективности определения, особенно в присутствии нескольких окисляющихся соединений, однако механизм указанного влияния во многих работах не раскрывается. Предположение об экстракционном концентрировании в целом нуждается в дополнительных исследованиях, а улучшение условий электронного обмена на поверхности сенсора очевидно, но прямо с аналитическими характеристиками определения связано не всегда. Описано определение дофамина и аскорбиновой кислоты [72–75], теofilлина и кофеина [76], аденозиндифосфата [77], рутина [78]. Более ранние работы по применению ионных жидкостей в составе электрохимических сенсоров обобщены в обзоре [79].

Биохимические сенсоры. Причины применения органических растворителей при измерениях с помощью биосенсоров те же, что и в традиционном электрохимическом анализе – повышение чувствительности измерения за счет гомогенизации объекта анализа и повышения концентрации аналита. Важным стимулом можно считать еще и упрощение пробоподготовки за счет исключения стадии удаления растворителя из экстракта. Однако большинство биохимических рецепторов при контакте с полярными органическими растворителями теряет часть молекул воды, стабилизирующих их трехмерную структуру [80]. Это зачастую приводит к необратимым последствиям – снижению сигнала в холостом опыте, уменьшению избирательности связывания молекул аналита и радикальному сокращению времени жизни биосенсора. Указанные проблемы в основном связаны с функционированием белков – антител и ферментов. Тем не менее существуют две области применения органических растворителей, заслуживающих упоминания применительно к ферментным сенсорам. Это – иммобилизация ферментов в

присутствии высоких концентраций апротонных растворителей, не смешивающихся с водой, и проблемы определения необратимых ингибиторов ацетилхолинэстеразы (АХЭ).

Возможность сохранения ферментативной активности после контакта фермента с растворителями, не смешивающимися с водой, установлена в работах проф. А.М. Клибанова и сотр. (МГУ, Москва) [81]. Показано, что зависимость ферментативной активности от концентрации органического растворителя имеет максимум в области высоких ее значений, так что фермент не только сохраняет свои каталитические свойства, но и приобретает возможность катализировать процессы, в водной среде невозможные. Указанное свойство нашло применение, в первую очередь, в органическом синтезе, включая промышленно важные процессы, протекающие под действием липаз [82]. Помимо этого органические растворители в концентрации около 90% успешно использовали также на стадии изготовления ферментных сенсоров с улучшенными аналитическими характеристиками. Так, описан сенсор [83] для контроля уровня лактата в потовых выделениях, в котором фермент иммобилизовали из 90%-ного изопропанола. Для защиты активного центра фермента в раствор дополнительно вводили полиэлектролиты. Биосенсор показал стабильный воспроизводимый сигнал в режиме проточно-инжекционного анализа в интервале концентраций лактата 1 мкМ–1 мМ. Предложены аналогичные способы иммобилизации глюкозооксидазы в пленки перфторированных полимеров, полученных из органических растворителей [84]. Биосенсоры демонстрировали 10-кратное увеличение чувствительности сигнала на пероксид водорода, продукт ферментативной реакции, и высокую устойчивость в потоке.

Ацетилхолинэстераза – фермент, катализирующий гидролиз эфиров холина. Она несовместима с полярными органическими растворителями, смешивающимися с водой, поскольку они вызывают необратимую потерю активности фермента. В присутствии пестицидов – ингибиторов фермента их действие аддитивно с влиянием растворителя. В этих условиях выбор растворителя и его концентрации можно рассматривать как компромисс между необходимостью работы с раствором пестицида и побочным эффектом растворителя, повышающим определяемые концентрации аналита в силу собственного влияния на фермент. Сигналом биосенсоров на основе АХЭ обычно служит ток окисления тиохолина – продукта ферментативного гидролиза синтетического субстрата ацетилтиохолина (уравнение (1)):



Его же определяют в фотометрической реакции с реактивом Элмана [85]. Результаты сравнения влияния метанола, этанола, пропанола, бутанола, пентанола, пропан-2-ола, ДМСО, ДМФА, тетрагидрофурана и ацетонитрила в концентрациях 5–20 об. % на взаимодействие АХЭ с хлорпирифосом, диизопропилфторфосфатом, дихлорфосом, диметоатом, фенитоном, параоксоном, фозалоном, пиримифосом приведены в работе [86]. Наименьшее влияние на определение пестицидов оказал изопропанол. Несколько позднее закономерности, установленные для раствора фермента в водных органических растворителях, применили для АХЭ, иммобилизованной на печатном графитовом электроде с хроноамперометрической регистрацией сигнала [87]. В оптимальных условиях биосенсор позволил определять боевые отравляющие вещества зарин, зоман, табун и VX газы с c_{lim} 7.41, 6.31, 61.7 и 21.9 пМ соответственно. Продолжительность анализа составила не более 10 мин. Измерению не мешали 10–20% этанола, метанола, изопропанола и ацетонитрила.

Применительно к иммобилизованной АХЭ наибольшее применение нашел ацетонитрил, присутствие которого в некоторых случаях даже повышало чувствительность фермента в отношении необратимых ингибиторов [88]. Так, описано определение О,О-диметил-О-2,2-дихлорвинилфосфата (ДДВФ) и метомила с помощью АХЭ, растворенной в смеси трис-буферного раствора и ацетонитрила. Сигналом служило медиаторное окисление тиохолина на золотом электроде в присутствии медиаторов электронного переноса — феррицианида и тионина [89]. Ацетилхолинэстераза различного происхождения, включая мутантные белки, полученную с помощью генной инженерии, использовали в составе биосенсоров на основе печатных графитовых электродов для определения дихлорфоса в коже яблок после его экстракции ацетонитрилом [90]. Для минимизации влияния растворителя фермент дополнительно защищали пленкой фотосшитого полимера PVA-SbQ, а экстракт разбавляли до содержания растворителя 5%, не влияющего на активность АХЭ. В модельных растворах максимум чувствительности показал мутантный фермент, выделенный из дрожифилы, с c_{lim} дихлорфоса 70 пМ. Аналогичная защита иммобилизованного фермента от действия органического растворителя может быть обеспечена введением в поверхностный слой биосенсора хитозана [91]. Определение параоксона в этом случае возможно

при концентрации ацетонитрила до 15% и метанола до 25%. Ранее предложено использовать стабилизацию АХЭ в каппа-каррагинане и проводить измерение в органических растворителях, не смешивающихся с водой, но предварительно насыщенных водным буферным раствором [92, 93].

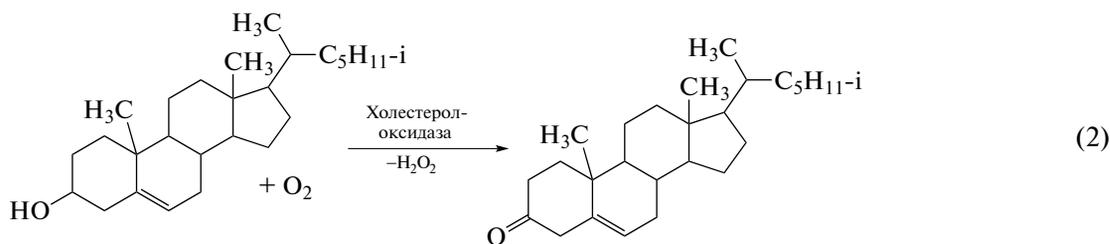
Среди других ферментных сенсоров, функционирующих в присутствии органических растворителей, можно выделить оксидоредуктазы, реагирующие с полярными субстратами, ограниченно растворимыми в воде. Так, описано [94] определение 2-аминофенола с помощью пероксидазы из хрена, включенной в состав угольно-пастового электрода. Измерения проводили в ацетатном буферном растворе, содержащем изопропанол, по току биокаталитического восстановления продукта димеризации аналита, образующегося в присутствии фермента; c_{lim} составил 9.2 мкМ, диапазон определяемых концентраций — 10 мкМ–1.0 мМ. Возможно селективное определение 2-аминофенола в присутствии избытка парацетамола.

Описано определение глюкозы с помощью глюкозооксидазы, иммобилизованной в слое полипиррола [95]. Для повышения чувствительности определения в слой полимера вводили сульфонатное производное каликс [6]арена, а электрополимеризацию проводили в ацетонитриле. По сравнению с полимером, полученным в водной среде, введение макроцикла и ацетонитрила повысило чувствительность определения более чем в два раза (с 31.6 до 79.3 мкА М⁻¹ см⁻²). Тот же фермент, иммобилизованный в пленке нафтона, прошел апробацию при проточно-инжекционном определении глюкозы в присутствии изопропанола [96].

Тирозиназу (полифенолоксидазу) иммобилизовали в нанокapsулах полиакрилата, полученных *in situ* в присутствии 4-диметиламиноантипиринина как стабилизатора [97]. Нанокapsулы закрепляли на поверхности стеклоуглерода в пленке хитозана и использовали при вольтамперометрическом определении бисфенола А (c_{lim} 12 нМ, диапазон определяемых концентраций 50 нМ–2.0 мкМ). Биосенсор сохранял отклик в 50%-ных водных растворителях (ДМСО, ДМФА, этанол и метанол). Биосенсор апробирован при определении бисфенола А в бутилированной воде и пластиковой посуде. Стабилизирующий эффект аналогичного полимерного слоя установлен также для лакказы [98].

Холестеролоксидазу иммобилизовали на гребенчатом электроде путем диазотирования 4-карбоксиметилфенилдиазониевой соли с последующим карбо-

диимидным связыванием по карбоксилатной группе [99]. Фермент катализирует окисление холестерина с образование пероксида водорода (уравнение (2)):



Для ускорения переноса электрона на электрод дополнительно электрохимически осаждали наночастицы золота. Холестерол определяли в присутствии 5%-ного изопропанола для повышения его растворимости в водной среде. В хроноамперометрическом режиме сенсор позволяет определять 0.005–1 мМ холестерина (C_{lim} 1.2 мкМ). Ферментный сенсор тестировали на образцах сыворотки крови человека, предварительно разбавленной в 20 раз фосфатным буферным раствором. Определению не мешали стандартные компоненты крови, способные к окислению в условиях эксперимента, – ацетаминофен, сорбиновая, аскорбиновая, мочева и салициловая кислоты, глутатион, глюкоза и креатинин.

Мутантные белки – цинк-, медьсодержащие супероксиддисмутазы – иммобилизовали на золотом электроде посредством Au–S-связывания [100]. Электронный перенос изучали в смесях вода–ДМСО с содержанием растворителя до 60%. Выявлено отсутствие зависимости формального редокс-потенциала, хотя токи пика белка уменьшались при увеличении доли ДМСО в растворе. Биосенсор использовали для чувствительного определения супероксидного аниона. Его генерировали в реакции ксантина и ксантинооксидазы, добавляемых в раствор. Наклон соответствующей зависимости тока пика фермента уменьшался линейно при увеличении концентрации органического растворителя, но оставался достаточно большим по сравнению с параметрами аналогичного сенсора на основе цитохрома С. Оптимальное содержание ДМСО составило 40 об. %.

Среди других классов ферментов можно упомянуть лишь глутатион-S-трансферазу, применяемую для определения пестицидов [101, 102]. Фермент иммобилизовали совместно с оксидом графена в слое желатина на стеклоуглеродном электроде. Субстратом служили глутатион и 1-хлор-2,4-динитробензол. Биосенсор тестировали на широком круге пестицидов – бензидазолов, хлорорганических соединений, карбаматов, тиофосфатов, полифенолов и пиретроидов. Измерения проводили в среде 25%-ного метанола.

Применение водно-органических и дисперсных сред для других типов электрохимических биосенсоров фактически не описано. Среди редких исключений – аптасенсор на глютен, функционирующий в глубоком эвтектическом растворителе этилине [103]. Измерения проводили на печатном графитовом электроде в сэндвичевом формате, используя в качестве метки пероксидазу из хрена. Активность фермента устанавливали хроноамперометрически по току восстановления продукта окисления тетраметилбензидина, субстрата пероксидазы. Биосенсор позволяет определять до 100 мкг/л глютена с нижней границей определяемых содержаний 1 мкг/л. Это существенно лучше, чем характеристики того же аптасенсора при измерениях в фосфатном буферном растворе (10 мкг/л). Интересно, что структуру аптамера на глютен также устанавливали, проводя селекцию последовательностей олигонуклеотидов в том же растворителе [104]. Аптасенсор использовали для контроля глютена в соевой и рисовой муке, а также в десертах (панакотта и ванильный крем). В последнем случае в качестве референсного метода использовали иммуноферментный тест.

* * *

Водно-органические и дисперсные среды, содержащие органические растворители, позволяют решать различные задачи, связанные с конструированием и применением электрохимических сенсоров на органические соединения. Традиционные подходы, когда растворитель изначально используется как экстрагент для извлечения аналита из органической матрицы, постепенно теряют свое значение, уступая более экологичным методам солиubilизации растворов в присутствии ПАВ. Однако гомогенные и эмульгированные среды сохраняют важное значение для определения веществ с низкой растворимостью в воде – витаминов, антиоксидантов, некоторых фармацевтических препаратов. В таких случаях объемная доля органического растворителя

теля достаточно низка для сохранения низкой себестоимости измерения, а влияние на электродную реакцию связано в основном с некоторым снижением обратимости электронного переноса по сравнению с аналогичными измерениями в водных растворах фоновых электролитов. Использование глубоких эвтектических растворителей и ионных жидкостей расширяет возможности электрохимического анализа за счет смягчения требований к условиям модификации индикаторных электродов и рабочему окну потенциалов, а также более широкого круга определяемых аналитов. Хотя число глубоких эвтектических растворителей пока ограничено в основном системами на основе холин хлорида, с введением в практику других аналогичных компонентов возможности электроанализа возрастут. Среди других перспективных направлений использования органических компонентов растворов — анализ в микрокаплях и микроэмульсиях как частях микрофлюидных устройств. Пока эти исследования ограничены генерацией микрокапель в электрическом поле и их подсчетом в микроканалах пористых матриц, однако следует ожидать в ближайшем будущем расширения данной тематики в связи с активными усилиями по разработке и внедрению нового поколения устройств на принципах микрофлюидики для решения задач медицинской диагностики и фармакокинетики вне лечебного учреждения.

Исследования проводили при поддержке Российского научного фонда (грант № 17-73-20024).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Bessegato G.G., Brugnara M.F., Valnice M., Zanoni B.* Electroanalytical sensing of dyes and colorants // *Curr. Opin. Electrochem.* 2019. V. 16. P. 134. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2019.05.008>
2. *Jeerapan I., Sonsaard T., Nacapricha D.* Applying nanomaterials to modern biomedical electrochemical detection of metabolites, electrolytes, and pathogens // *Chemosensors.* 2020. V. 8. Article 71. <https://doi.org/10.3390/chemosensors8030071>
3. *Simoska O., Stevenson K.J.* Electrochemical sensors for rapid diagnosis of pathogens in real time // *Analyst.* 2019. V. 144. P. 6461. <https://doi.org/10.1039/c9an01747j>
4. *Labib M., Sragent E.H., Kelly O.S.* Electrochemical methods for the analysis of clinically relevant biomolecules // *Chem. Rev.* 2016. V. 116. P. 9001. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00220>
5. *Zima J., Švancara I., Barek J., Vytrás K.* Recent advances in electroanalysis of organic compounds at carbon paste electrodes // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2009. V. 39. P. 204. <https://doi.org/10.1080/10408340903011853>
6. *Choi J.R., Yong K.W., Choi J.Y., Cowie A.C.* Emerging point-of-care technologies for food safety analysis // *Sensors.* 2019. V. 19. P. 817. <https://doi.org/10.3390/s19040817>
7. *Barek J.* How to improve the performance of electrochemical sensors via minimization of electrode passivation // *Chemosensors.* 2021. V. 9. Article 12. <https://doi.org/10.3390/chemosensors9010012>
8. *Tessensohn M.E., Ng S.J., Chan K.K., Gan S.L., Sims N.F., Koh Y.R., Webster R.D.* Impurities in nitrile solvents commonly used for electrochemistry, and their effects on voltammetric data // *ChemElectroChem.* 2016. V. 3. № 11. P. 1753. <https://doi.org/10.1002/celec.201600266>
9. *Švancara I., Vytrás K., Renger F., Smyth M.R.* Application of carbon paste electrodes in highly methanolic solutions // *Electrochim. Acta.* 1992. V. 37. P. 1355. [https://doi.org/10.1016/0013-4686\(92\)87007-M](https://doi.org/10.1016/0013-4686(92)87007-M)
10. *Басова Е.М., Иванов В.М., Апендеева О.К., Прохорова Г.В.* Изучение окисления диэтилдитиокарбамината натрия на стеклоуглеродном электроде в водных и водно-органических растворах // *Вестн. Моск. ун-та. Химия.* 2013. Т. 54. № 2. С. 85. (*Basova E.M., Ivanova V.M., Apendeeva O.K., Prokhorova G.V.* A study of sodium diethyldithiocarbamate oxidation at glassy carbon electrode in water and water-organic mixtures // *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2013. V. 68. № 2. P. 87.). <https://doi.org/10.3103/S0027131413020028>
11. *Peverly A.A., Karty J.A., Peters D.G.* Electrochemical reduction of (1R,2r,3S,4R,5r, 6S)-hexachlorocyclohexane (lindane) at silver cathodes in organic and aqueous-organic media // *J. Electroanal. Chem.* 2013. V. 692. P. 66. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2013.01.009>
12. *German N., Armalis S.* Voltammetric determination of naphthalene, fluorene and anthracene using mixed water-organic solvent media // *Chemija.* 2012. V. 23. P. 86.
13. *Cincotto F.H., Canevari T.C., Machado S.A.S.* Highly sensitive electrochemical sensor for determination of vitamin D in mixtures of water-ethanol // *Electroanalysis.* 2014. V. 26. P. 2783. <https://doi.org/10.1002/elan.201400451>
14. *Žabčiková S., Mikysek T., Červenka L., Šýs M.* Electrochemical study and determination of all-*trans*-retinol at carbon paste electrode modified by a surfactant // *Food Technol. Biotechnol.* 2018. V. 56. P. 337. <https://doi.org/10.17113/ftb.56.03.18.5618>
15. *Cirrinzione M., Zanfagnini B., Pigani L., Protti M., Mercolini L., Zanardi C.* Development of an electrochemical sensor based on carbon black for the detection of cannabidiol in vegetable extracts // *Analyst.* 2021. V. 146. P. 612. <https://doi.org/10.1039/D0AN01932A>
16. *Santos D.P., Trindade M.A.G., Oliveira R.A.G., Osugi M.E., Bianchi A.R., Zanoni M.V.B.* Electrochemical method for quantitative determination of trace amounts of disperse dye in wastewater // *Color. Technol.* 2013. V. 130. P. 43. <https://doi.org/10.1111/cote.12059>
17. *Borsari M., Bellei M., Tavagnacco C., Peressini S., Millo D., Costa G.* Redox thermodynamics of cytochrome *c* in mixed water/organic solvent solutions //

- Inorg. Chim. Acta. 2003. V. 349. P. 182.
[https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(03\)00043-4](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(03)00043-4)
18. Krylov A.V., Pfeil W., Lisdat F. Denaturation and renaturation of cytochrome *c* immobilized on gold electrodes in DMSO-containing buffers // J. Electroanal. Chem. 2004. V. 569. P. 225.
<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2004.03.005>
 19. Liu H.-H., Wan Y.-Q., Zou G.-L. Redox reactions and enzyme-like activities of immobilized myoglobin in aqueous/organic mixtures // J. Electroanal. Chem. 2006. V. 594. P. 111.
<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2006.05.027>
 20. Tom J., Jakubec P.J., Andreas H.A. Mechanisms of enhanced hemoglobin electroactivity on carbon electrodes upon exposure to a water-miscible primary alcohol // Anal. Chem. 2018. V. 90. P. 5764.
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b00117>
 21. Da Silva J.A., Vergara L.J.N., Bollo S., Squella J.A. Voltammetric redox behavior of nitrofuryl 1,4-dihydropyridine derivatives: Interdependence between two redox centers // J. Electroanal. Chem. 2006. V. 591. P. 99.
<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2006.03.034>
 22. Michalkiewicz S. Cathodic reduction of coenzyme Q₁₀ on glassy carbon electrode in acetic acid–acetonitrile solutions // Bioelectrochem. 2007. V. 70. P. 495.
<https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2006.08.003>
 23. Li D., Deng W., Xu H., Sun Y., Wang Y., Chen S., Ding X. Electrochemical investigation of coenzyme Q₁₀ on silver electrode in ethanol aqueous solution and its determination using differential pulse voltammetry // J. Lab. Autom. 2016. V. 21. P. 579.
<https://doi.org/10.1177/2211068216644442>
 24. Eslami M., Namazian M., Zare H.R. Electrooxidation of homogentisic acid in aqueous and mixed solvent solutions: Experimental and theoretical studies // J. Phys. Chem. B. 2013. V. 117. P. 2757.
<https://doi.org/10.1021/jp3121325>
 25. Коротаева Л.М., Рубинская Т.Я., Михальченко Л.В., Рыбакова И.А., Гультай В.П. Особенности механизма электровосстановления коричной кислоты в ДМФ и смеси ДМФ–H₂O // Электрохимия. 2011. Т. 47. № 10. С. 1220. (Korotaeva L.M., Rubinskaya T.Ya., Mikhal'chenko L.V., Rybakova I.A., Gul'tyai V.P. Peculiarities of the mechanism of electroreduction of cinnamic acid in DMF and DMF–H₂O mixture // Russ. J. Electrochem. 2011. V. 47. № 10. P. 1139.)
<https://doi.org/10.1134/S1023193511100065>
 26. Коротаева Л.М., Рубинская Т.Я., Рыбакова И.А., Гультай В.П. Электровосстановление коричной кислоты в ДМФ в присутствии уксусной кислоты на ртутном катоде // Электрохимия. 2013. Т. 49. № 10. С. 1048. (Korotaeva L.M., Kurmaz V.B., Rubinskaya T.Ya., Gul'tyai V.P. Electrochemical behavior of cinnamic acid associates on carbo-sitall electrode in dimethylformamide in the presence of external proton donors // Russ. J. Electrochem. 2015. V. 51. № 12. P. 1135.)
<https://doi.org/10.1134/S1023193513100108>
 27. Krivenko A.G., Kurmaz V.A., Kotkin A.S., Manzhos P.A., Korotaeva L.M., Gul'tyai V.P. О природе элементарных стадий электровосстановления алкил(гетеро)арилсульфонов в водно-органических средах // Электрохимия. 2011. Т. 47. № 10. С. 1209. (Krivenko A.G., Kurmaz V.A., Kotkin A.S., Manzhos R.A., Korotaeva L.M., Gul'tyai V.P. The elementary stages of electroreduction of alkyl(hetero)arylsulfones in water-organic media // Russ. J. Electrochem. 2011. V. 47. № 10. P. 1129.)
<https://doi.org/10.1134/S1023193511100090>
 28. Michalkiewicz S. Anodic oxidation of parabens in acetic acid-acetonitrile solutions // J. Appl. Electrochem. 2013. V. 43. P. 85.
<https://doi.org/10.1007/s10800-012-0502-5>
 29. Gubica T., Stroka J., Temeriusz A., Kańska M. Cyclic voltammetry of nitrophenyl *N*-glycosides on mercury electrode // Phys. Org. Chem. 2011. V. 24. P. 1229.
<https://doi.org/10.1002/poc.1854>
 30. Alagappan M., Immanuel S., Sivasubramanian R., Kandaswamy A. Development of cholesterol biosensor using Au nanoparticles decorated f-MWCNT covered with polypyrrole network // Arab. J. Chem. 2020. V. 13. № 1. P. 2001.
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.02.018>
 31. Ganaie N.B., Peerzada G.M. Dynamical regime of resorcinol based Belousov – Zhabotinsky chemical oscillator in the presence or absence of some hydrophobic antioxidants in aqueous–organic mixed media // RSC Adv. 2017. V. 7. P. 13019.
<https://doi.org/10.1039/C6RA25351B>
 32. Danielsson I., Lindman B. The definition of micro-emulsion // Colloids Surf. 1981. V. 3. P. 391.
[https://doi.org/10.1016/0166-6622\(81\)80064-9](https://doi.org/10.1016/0166-6622(81)80064-9)
 33. Gálvez R., Pedrero M., Buayo F., de Villena J.M., Pingarrón J.M. Oil-in-water emulsions as suitable working media for the direct polarographic determination of aziprotryne and desmetryne from its organic extracts in water samples // Fresenius J. Anal. Chem. 2000. V. 367. P. 454.
<https://doi.org/10.1007/s002160000352>
 34. Wu J., Wang W., Wang M., Liu H., Pan H. Electrochemical behavior and direct quantitative determination of tanshinone IIA in micro-emulsion // Int. J. Electrochem. Sci. 2016. V. 11. P. 5165.
<https://doi.org/10.20964/2016.06.55>
 35. Drach M., Narkiewicz-Michałek J., Sienkiewicz A., Szymula M., Bravo-Díaz C. Antioxidative properties of vitamins C and E in micellar systems and in micro-emulsions // Colloids Surf. A. 2011. V. 379. P. 79.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.11.073>
 36. Sienkiewicz A., Szymula M., Narkiewicz-Michałek J. Studies of ascorbic acid electroactivity in the H₂O/ACN(EtOH) solutions containing SDS // Colloids Surf. A. 2012. V. 413. P. 44.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2012.02.034>
 37. Apetrei I.M., Apetrei C. Voltammetric e-tongue for the quantification of total polyphenol content in olive oils // Food Res. Int. 2013. V. 54. P. 2075.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.04.032>
 38. Banks C.E., Davies T.J., Evans R.G., Hignett G., Wain A.J., Lawrence N.S., Wadhawan J.D., Marken F., Compton R.G. Electrochemistry of immobilised redox droplets: Concepts and applications // Phys. Chem. Chem. Phys. 2003. V. 5. P. 4053.
<https://doi.org/10.1039/B307326M>

39. *Yeste J., Illa X., Alvarez M., Villa R.* Engineering and monitoring cellular barrier models // *J. Biol. Eng.* 2018. V. 12. P. 1.
<https://doi.org/10.1186/s13036-018-0108-5>
40. *Cuartero M., Chai L., Zhang B., De Marco R., Crespo G.A.* Ferrocene self-assembled monolayer as a redox mediator for triggering ion transfer across nanometer-sized membranes // *Electrochim. Acta.* 2019. V. 315. P. 84.
<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.05.091>
41. *Shi C., Anson F.C.* Electron transfer between reactants located on opposite sides of liquid/liquid interfaces // *J. Phys. Chem. B.* 1999. V. 103. P. 6283.
<https://doi.org/10.1021/jp9911321>
42. *Yang H., Kwon H., Kim B.-K., Park J.H.* Electrochemical detection of single attoliter aqueous droplets in electrolyte-free organic solvent via collision events // *Electrochim. Acta.* 2019. V. 320. Article 134620.
<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.134620>
43. *Laborda E., González J., Molina A.* Analytical theory for ion transfer-electron transfer coupled reactions at redox layer-modified/thick film-modified electrodes // *Curr. Opin. Electrochem.* 2020. V. 19. P. 78.
<https://doi.org/10.1016/j.coelec.2019.10.007>
44. *Vagin M.Yu., Trashin S.A., Karpachova G.P., Klyachko N.L., Karyakin A.A.* Protein extracting electrodes: Insights in the mechanism // *J. Electroanal. Chem.* 2008. V. 623. P. 68.
<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2008.06.019>
45. *Vagin M.Yu., Trashin S.A., Karyakin A.A., Mascini M.* Label-free detection of DNA hybridization at a liquid | liquid interface // *Anal. Chem.* 2008. V. 80. № 4. P. 336.
<https://doi.org/10.1021/ac701923c>
46. *Zhang Q., Li D., Cao X., Gu H., Deng W.* Self-assembled microgels arrays for electrostatic concentration and surface-enhanced Raman spectroscopy detection of charged pesticides in seawater // *Anal. Chem.* 2019. V. 91. № 17. P. 11192.
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02106>
47. *Ganesan V., Madrid E., Malpass-Evans R., Carta M., McKeown N.B., Marken F.* Biphasic voltammetry and spectroelectrochemistry in polymer of intrinsic microporosity – 4-(3-phenylpropyl)-pyridine organogel/aqueous electrolyte systems: Reactivity of MnPc versus MnTPP // *Electrocatalysis.* 2019. V. 10. P. 295.
<https://doi.org/10.1007/s12678-018-0497-8>
48. *Duarte L.C., Chagas C.L.S., Ribeiro L.E.B., Coltro W.K.T.* 3D printing of microfluidic devices with embedded sensing electrodes for generating and measuring the size of microdroplets based on contactless conductivity detection // *Sens. Actuators B.* 2017. V. 251. P. 427.
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.05.011>
49. *Hosu O., Barsan M.M., Săndulescu R., Cristea C., Brett C.M.A.* Hybrid nanocomposite platform, based on carbon nanotubes and poly(methylene blue) redox polymer synthesized in ethaline deep eutectic solvent for electrochemical determination of 5-aminosalicylic acid // *Sensors.* 2021. V. 21. Article 1161.
<https://doi.org/10.3390/s21041161>
50. *Aldana-Gonzalez J., Romero-Romo R., Robles-Peralta J., Morales-Gil P., Palacios-Gonzalez E., Ramirez-Silva M.T., Mostany J., Palomar-Pardav M.* On the electrochemical formation of nickel nanoparticles onto glassy carbon from a deep eutectic solvent // *Electrochim. Acta.* 2018. V. 276. P. 417.
<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.04.192>
51. *Zhong J., Li L., Waqas M., Wang X., Fan Y., Qi J., Yang D., Rong C., Chen W., Sun S.* Deep eutectic solvent-assisted synthesis of highly efficient PtCu alloy nanoclusters on carbon nanotubes for methanol oxidation reaction // *Electrochim. Acta.* 2019. V. 322. Article 134677.
<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.134677>
52. *Smith E.L., Abbott A.P., Ryder K.S.* Deep eutectic solvents (DESs) and their applications // *Chem. Rev.* 2014. V. 114. P. 11060.
<https://doi.org/10.1021/cr300162p>
53. *Shishov A., Pochivalov A., Nugbienyo L., Andruch V., Bulatov A.* Deep eutectic solvents are not only effective extractants // *Trends Anal. Chem.* 2020. V. 129. Article 115956.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115956>
54. *Brett C.M.A.* Deep eutectic solvents and applications in electrochemical sensing // *Curr. Opin. Electrochem.* 2018. V. 10. P. 143.
<https://doi.org/10.1016/j.coelec.2018.05.016>
55. *Gomez F.J.V., Spisso A., Silva M.F.* Pencil graphite electrodes for improved electrochemical detection of oleuropein by the combination of natural deep eutectic solvents and graphene oxide // *Electrophoresis.* 2017. V. 38. P. 2704.
<https://doi.org/10.1002/elps.201700173>
56. *Gomez F.J.V., Espino M., Fernandez M.A., Raba J., Silva M.F.* Enhanced electrochemical detection of quercetin by natural deep eutectic solvents // *Anal. Chim. Acta.* 2016. V. 936. P. 91.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.07.022>
57. *Zheng H., Ye L., Yan L., Gao Y.* The electrochemical behavior and determination of quercetin in choline chloride/urea deep eutectic solvent electrolyte based on abrasively immobilized multi-wall carbon nanotubes modified electrode // *Int. J. Electrochem. Sci.* 2014. V. 9. P. 238.
58. *Shabani E., Zappi D., Berisha L., Dini D., Antonelli M.L., Sadun C.* Deep eutectic solvents (DES) as green extraction media for antioxidants electrochemical quantification in extra-virgin olive oils // *Talanta.* 2020. V. 215. Article 120880.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.120880>
59. *Alizadeh N., Ghoorchian A.* Hybrid optoelectrochemical sensor for superselective detection of 2,4,6-trinitrotoluene based on electrochemical reduced Meisenheimer complex // *Anal. Chem.* 2018. V. 90. P. 10360.
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b02183>
60. *Li Y., Li Y., Wang Y., Ma G., Liu X., Li Y., Soar J.* Application of zeolitic imidazolate frameworks (ZIF-8)/ionic liquid composites modified nano-carbon paste electrode as sensor for electroanalytical sensing of 1-hydroxypyrene // *Microchem. J.* 2020. V. 159. Article 105433.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105433>
61. *Mangaiyarkarasi, R., Premalatha, S., Khan R., Pratibha R., Umadevi S.* Electrochemical performance of a new imidazolium ionic liquid crystal and carbon paste composite electrode for the sensitive detection of parac-

- etamol // *J. Mol. Liquids*. 2020. V. 319. Article 114255. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114255>
62. Zhang X., Li X., Pei X., Shu S., Min Q., Wang S. Determination of tyrosine in artificial urine using a screen-printed electrode modified with tetrathiafulvalene-tetracyanoquinodimethane/ionic liquid conductive gel // *Int. J. Electrochem. Sci.* 2020. V. 15. P. 9179. <https://doi.org/10.20964/2020.09.38>
 63. El-Desoky H.S., Khattab A.E. A simple approach for trace voltammetrical determination of itraconazole an inhibitor of the cytochrome P-450 14 α -demethylase enzyme in formulation and human plasma utilizing graphene-carbon paste electrode in situ modified with an anionic surfactant // *J. Electrochem. Soc.* 2020. V. 167. P. 147502. <https://doi.org/10.1149/1945-7111/abdd5>
 64. Tajik S., Aflatoonian M.R., Beitollahi H., Shoaie I.S., Dourandish Z., Garkani F., Fariba, Nejad G., Aflatoonian B., Bamorovat M. Electrocatalytic oxidation and selective voltammetric detection of methyl dopa in the presence of hydrochlorothiazide in real samples // *Microchem. J.* 2020. V. 158. Article 105182. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105182>
 65. Zou F., Kong Y., Cui B. Fluoride-free electropolymerization of 3-aminophenylboronic acid in room temperature ionic liquids without exogenous protons // *J. Mol. Liquids*. 2020. V. 317. Article 114141. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114141>
 66. Aldroubi S., Brun N., Malham I.B., Mehdi A. When graphene meets ionic liquids: A good match for the design of functional materials // *Nanoscale*. 2021. V. 13. P. 2750. <https://doi.org/10.1039/D0NR06871C>
 67. Dohertya, A.P., Graham L., Wagner K., Officer D.L., Chen J., Wallace G.G. Functional electro-materials based on ferricyanide redox-active ionic liquids // *Electrochim. Acta*. 2017. V. 245. P. 934. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.05.201>
 68. Tajik S., Beitollahi H., Hosseinzadeh R., Afshar A.A., Varma R.S., Jang H.W., Shokouhimehr M. Electrochemical detection of hydrazine by carbon paste electrode modified with ferrocene derivatives, ionic liquid, and CoS₂ – carbon nanotube nanocomposite // *ACS Omega*. 2021. V. 6. P. 4641. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c05306>
 69. Rather J.A., Al Abria A., Kannan P. Electrochemical sensing of parabens in solubilized ionic liquid system at polyaniline decorated gold nanoparticles constructed interface // *Microchem. J.* 2020. V. 159. Article 105379. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105379>
 70. Forzani E.S., Lu D., Leright M.J., Aguilar A.D., Tsow F., Iglesias R.A., Zhang Q., Lu J., Li J., Tao N. A hybrid electrochemical-colorimetric sensing platform for detection of explosives // *J. Am. Chem. Soc.* 2009. V. 131. P. 1390. <https://doi.org/10.1021/ja809104h>
 71. Плетнев И.В., Смирнова С.В., Шведене Н.В. Новые направления применения ионных жидкостей в аналитической химии. 2. Электрохимические методы // *Журн. аналит. химии*. 2019. Т. 74. № 7 Приложение. С. S3. (Pletnev I.V., Smirnova S.V., Shvedene N.V. New directions in using ionic liquids in analytical chemistry. 2: Electrochemical methods // *J. Anal. Chem.* 2019. V. 74. P. S1 (Suppl. 1.) doi). <https://doi.org/10.1134/S1061934819070177>
 72. Wang C.-H., Wu C.-H., Wu J.-W., Lee M.-T., Chang J.-K., Ger M.-D., Sun C.-L. The effects of ionic liquid on the electrochemical sensing performance of graphene- and carbon nanotube-based electrodes // *Analyst*. 2012. V. 138. № 2. P. 576. <https://doi.org/10.1039/C2AN36263E>
 73. Sun W., Wang Y., Zhang Y., Ju X., Li G., Sun Z. Poly(methylene blue) functionalized graphene modified carbon ionic liquid electrode for the electrochemical detection of dopamine // *Anal. Chim. Acta*. 2012. V. 751. P. 59. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.09.006>
 74. Wang C., Xu P., Zhuo K. Ionic liquid functionalized graphene-based electrochemical biosensor for simultaneous determination of dopamine and uric acid in the presence of ascorbic acid // *Electroanalysis*. 2014. V. 26. № 1. P. 191. <https://doi.org/10.1002/elan.201300345>
 75. Zhuang X., Wang H., He T., Chen L. Enhanced voltammetric determination of dopamine using a glassy carbon electrode modified with ionic liquid-functionalized graphene and carbon dots // *Microchim. Acta*. 2016. V. 183. № 12. P. 3177. <https://doi.org/10.1007/s00604-016-1971-8>
 76. Yang G., Zhao F., Zeng B. Facile fabrication of a novel anisotropic gold nanoparticle–chitosan–ionic liquid/graphene modified electrode for the determination of theophylline and caffeine // *Talanta*. 2014. V. 127. P. 116. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.03.029>
 77. Руан Ч., Сун Ж., Лу Ш., Ли Л., Лоу Ж., Сун В. Электрохимическое поведение и определение аденозин-5-дифосфата на углеродном электроде, модифицированном ионной жидкостью // *Электрохимия*. 2014. Т. 5. С. 144. (Ruan C., Sun Z., Lu S., Li L., Lou J., Sun W. Electrochemistry of adenosine 5' diphosphate on ionic liquid modified carbon electrode and its detection // *Russ. J. Electrochem.* 2014. V. 50. № 2. P. 129.). <https://doi.org/10.1134/S1023193513020158>
 78. Sun W., Dong L., Lu Y., Deng Y., Yu J., Sun X., Zhu Q. Electrochemical detection of rutin on nitrogen-doped graphene modified carbon ionic liquid electrode // *Sens. Actuators B*. 2014. V. 199. P. 36. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.03.080>
 79. Шведене Н.В., Чернышёв Д.В., Плетнев И.В. Ионные жидкости в электрохимических сенсорах // *Рос. хим. журн.* 2008. Т. 52. № 2. С. 80. (Shvedene N.V., Chernyshov D.V., Pletnev I.V. Ionic liquids in electrochemical sensors // *Russ. J. Gen. Chem.* 2008. V. 78. № 12. P. 2507.). <https://doi.org/10.1134/S1070363208120311>
 80. Klibanov A.M. Why are enzymes less active in organic solvents than in water? // *Trends Biotechnol.* 1997. V. 15. № 3. P. 97. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(97\)01013-5](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(97)01013-5)
 81. Klibanov A.M. Improving enzymes by using them in organic solvents // *Nature*. 2001. V. 409. P. 241. <https://doi.org/10.1038/35051719>
 82. Zaks A., Klibanov A.M. Enzyme-catalyzed processes in organic solvents // *PNAS*. 1985. V. 82. № 10. P. 3192. <https://doi.org/10.1073/pnas.82.10.3192>

83. *Pribil M.M., Laptev G.U., Karyakina E.E., Karyakin A.A.* Noninvasive hypoxia monitor based on gene-free engineering of lactate oxidase for analysis of undiluted sweat // *Anal. Chem.* 2014. V. 86. № 11. P. 5215. <https://doi.org/10.1021/ac501547u>
84. *Karyakin A.A., Kotel'nikova E.A., Lukachova L.V., Karyakina E.E., Wang J.* Optimal environment for glucose oxidase in perfluorosulfonated ionomer membranes: Improvement of first-generation biosensors // *Anal. Chem.* 2002. V. 74. № 7. P. 1597. <https://doi.org/10.1021/ac0155409>
85. *Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V.* A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity // *Biochem. Pharmacol.* 1961. V. 7. P. 88. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
86. *Pohanka M., Drtinova L., Kuca K.* Acetylcholinesterase based assay of eleven organophosphorus pesticides: Finding of assay limitations // *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2012. V. 92. № 1. P. 125. <https://doi.org/10.1080/03067310903199526>
87. *Pohanka M., Adam V., Kizek R.* An acetylcholinesterase-based chronoamperometric biosensor for fast and reliable assay of nerve agents // *Sensors.* 2013. V. 13. P. 11498. <https://doi.org/10.3390/s130911498>
88. *Gogol E.V., Evtugyn G.A., Marty J.-L., Budnikov H.C., Winter V.G.* Amperometric biosensors based on nafion coated screen-printed electrodes for the determination of cholinesterase inhibitors // *Talanta.* 2000. V. 53. № 2. P. 379. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(00\)00507-5](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(00)00507-5)
89. *Shimada H., Kiyozumi Y., Koga Y., Ogata Y., Katsuda Y., Kitamura Y., Nishiyama M.K., Baba H., Ihara T.* A novel cholinesterase assay for the evaluation of neurotoxin poisoning based on the electron-transfer promotion effect of thiocholine on an Au electrode // *Sens. Actuators B.* 2019. V. 298. Article 126893. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.126893>
90. *Valdés-Ramírez G., Fournier D., Ramírez-Silva M.T., Marty J.-L.* Sensitive amperometric biosensor for dichlorovos quantification: application to detection of residues on apple skin // *Talanta.* 2008. V. 74. № 4. P. 741. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.07.004>
91. *Warner J., Andreescu S.* An acetylcholinesterase (AChE) biosensor with enhanced solvent resistance based on chitosan for the detection of pesticides // *Talanta.* 2016. V. 146. P. 279. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.08.030>
92. *Campanella L., Favero G., Sammartino M.P., Tomassetti M.* Enzymatic immobilisation in kappa-carrageenan gel suitable for organic phase enzyme electrode (OPEE) assembly // *J. Mol. Catal. B.* 1999. V. 7. № 1–4. P. 101. [https://doi.org/10.1016/S1381-1177\(99\)00035-1](https://doi.org/10.1016/S1381-1177(99)00035-1)
93. *Campanella L., De Luca, S., Sammartino M.P., Tomassetti M.* A new organic phase enzyme electrode for the analysis of organophosphorus pesticides and carbamates // *Anal. Chim. Acta.* 1999. V. 385. № 1–3. P. 59. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(98\)00806-X](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00806-X)
94. *Reddaiah K., Madhusudana Reddy T.* Electrochemical biosensor based on silica sol-gel entrapment of horseradish peroxidase onto the carbon paste electrode toward the determination of 2-aminophenol in non-aqueous solvents: A voltammetric study // *J. Mol. Liq.* 2014. V. 196. P. 77. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2014.03.023>
95. *Safarnavadeh V., Zare K., Fakhari A.R.* Capability of parasulfonato calix[6]arene, as an anion dopant, and organic solvents in enhancing the sensitivity and loading of glucose oxidase (GOx) on polypyrrole film in a biosensor: A comparative study // *Biosens. Bioelectron.* 2013. V. 49. P. 159. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.04.043>
96. *Adányia N., Tóth-Markus M., Szabó E.E., Váradi M., Sammartino M.P., Tomassetti M., Campanella L.* Investigation of organic phase biosensor for measuring glucose in flow injection analysis system // *Anal. Chim. Acta.* 2004. V. 501. № 2. P. 219. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.09.034>
97. *Wu L., Lu X., Niu K., Dhanjai, Chen T.* Tyrosinase nanocapsule based nano-biosensor for ultrasensitive and rapid detection of bisphenol A with excellent stability in different application scenarios // *Biosens. Bioelectron.* 2020. V. 165. Article 112407. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112407>
98. *Kovaliov K., Zhang B., Konkolewicz D., Szcześniak K., Jurga S., Averick S.* Polymer grafting from a metallo-centered enzyme improves activity in non-native environments // *Polymer Int.* 2020. <https://doi.org/10.1002/pi.6127>
99. *Sharma D., Lee J., Seo J., Shin H.* Development of a sensitive electrochemical enzymatic reaction-based cholesterol biosensor using nano-sized carbon interdigitated electrodes decorated with gold nanoparticles // *Sensors.* 2017. V. 17. № 9. Article 2128. <https://doi.org/10.3390/s17092128>
100. *Kapp A., Beissenhirtz M.K., Geyer F., Scheller F., Viezzoli M.S., Lisdat F.* Electrochemical and sensorial behavior of SOD mutants immobilized on gold electrodes in aqueous/organic solvent mixtures // *Electroanalysis* 2006. V. 18. P. 1909. <https://doi.org/10.1002/elan.200603620>
101. *Borah H., Dutta R.R., Gogoi S., Puzari P.* Influence of methanol, ethanol and cypermethrin on the glutathione-S-transferase catalyzed reaction of glutathione with 1-chloro-2,4-dinitrobenzene: A method for detection and quantification of cypermethrin // *Electrochim. Acta.* 2016. V. 205. P. 198. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2016.03.199>
102. *Borah H., Gogoi S., Kalita S., Puzari P.* A broad spectrum amperometric pesticide biosensor based on glutathione-S-transferase immobilized on graphene oxide-gelatin matrix // *J. Electroanal. Chem.* 2018. V. 828. P. 11. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.09.047>
103. *Svigelj R., Dossi N., Pizzolato S., Toniolo R., Miranda-Castro R., de-los-Santos-Álvarez N., Lobo-Castañón M.E.* Truncated aptamers as selective receptors in a gluten sensor supporting direct measurement in a deep eutectic solvent // *Biosens. Bioelectron.* 2020. V. 165. P. 112339. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112339>
104. *Svigelj R., Dossi N., Toniolo R., Miranda-Castro R., de-los-Santos-Álvarez N., Lobo-Castañón M.E.* Selection of anti-gluten DNA aptamers in a deep eutectic solvent // *Angew. Chem.* 2018. V. 130. № 39. P. 13032. <https://doi.org/10.1002/anie.201804860>

УДК 543

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СХЕМ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ ФОРМ РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ПОЧВАХ В РЕЖИМЕ ДИНАМИЧЕСКОГО ЭКСТРАГИРОВАНИЯ

© 2021 г. Ю. Н. Шатрова^{a, *}, Р. Х. Дженлода^a, Н. Н. Федюнина^b,
В. К. Карандашев^{b, c}, П. С. Федотов^a

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

^bНациональный исследовательский технологический университет “МИСиС”
Ленинский просп., 4, Москва, 119049 Россия

^cИнститут проблем технологии микроэлектроники и особо чистых материалов Российской академии наук
ул. Институтская, 6, Черноголовка, Московская обл., 142432 Россия

*e-mail: shatrovajan@gmail.com

Поступила в редакцию 02.04.2021 г.

После доработки 26.04.2021 г.

Принята к публикации 26.04.2021 г.

Редкоземельные элементы (РЗЭ) в настоящее время используют в составе удобрений, однако их поведение в системе “почва–растение” остается малоизученным. Важной задачей остается оценка связывания РЗЭ с различными органоминеральными фазами почв. На примере дерново-подзолистой почвы и типичного чернозема проведено сравнительное изучение двух схем фракционирования форм РЗЭ в почвах в режиме динамического экстрагирования. По пятистадийной схеме с применением 0.05 М раствора $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0.43 М CH_3COOH , 0.1 М раствора $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (рН 3.6), 0.1 М раствора $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$ (рН 11.0) и 0.1 М раствора $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ (рН 3.2) выделяли соответственно пять экстрагируемых фракций, которые можно условно назвать обменной, специфически сорбированной, связанной с оксидами марганца, связанной с органическим веществом и связанной с аморфными и слабо окристаллизованными оксидами железа и алюминия. По четырехстадийной схеме с применением 0.05 М раствора $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0.1 М лимонной кислоты, 0.05 М раствора $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (рН 2.0) и 1.4 М HNO_3 выделяли соответственно обменные ионы, связанную с карбонатами, восстанавливаемую и кислоторастворимую фракции. Содержание элементов в исходных образцах и вытяжках определяли методами атомно-эмиссионной спектрометрии и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Согласно полученным данным, при использовании пятистадийной схемы основной экстрагируемой формой РЗЭ (до 40% от валового содержания) являются металлоорганические комплексы, экстрагируемые 0.1 М раствором пиррофосфата калия. При использовании четырехстадийной схемы основная доля РЗЭ (до 30%) извлекается 1.4 М азотной кислотой. На примере La, Ce, Nd проведено сопоставление двух схем. Показано, что содержание РЗЭ, извлекаемых азотной кислотой (четырёхстадийная схема), соответствует содержанию РЗЭ, извлекаемых пиррофосфатом (пятистадийная схема). Кроме этого, применение 0.05 М раствора $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ при рН 2.0 (четырёхстадийная схема) и 0.1 М раствора $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ при рН 3.2 (пятистадийная схема) также приводит к сходным результатам. Таким образом, обе схемы могут быть использованы при динамическом фракционировании форм РЗЭ в почвах. Пятистадийная схема, однако, является предпочтительной, поскольку применяемые реагенты достаточно селективны по отношению к растворяемым органоминеральным фазам почв, что позволяет получить более четкую картину распределения форм РЗЭ.

Ключевые слова: динамическое фракционирование форм элементов, экстрагирование, почвы, редкоземельные элементы, вращающаяся спиральная колонка.

DOI: 10.31857/S0044450221100108

К редкоземельным элементам (РЗЭ) относятся 14 лантаноидов, Sc и Y. Естественным источником поступления РЗЭ в почвы являются подстилающие породы. Основным антропогенным источникам РЗЭ в почвах являются удобрения,

заметный вклад может вносить загрязнение почв фосфогипсом (отходом производства минеральных удобрений) [1, 2]. В настоящее время поведение РЗЭ в системе “почва–растение” остается малоизученным.

В целом данных о валовом содержании элементов в почвах пока недостаточно для оценки их связывания с различными органоминеральными фазами почв и, следовательно, подвижности и потенциальной биологической доступности. Для получения этой информации используют последовательное экстрагирование, в ходе которого образец почвы подвергают воздействию различных выщелачивающих реагентов [3]. Реагенты, применяемые в схемах последовательного экстрагирования, имитируют условия высвобождения элементов, связанных с различными компонентами почв, при возможном изменении условий окружающей среды, таких как ионный состав почвенного раствора, рН, окислительно-восстановительный потенциал [4].

Согласно рекомендациям ИЮПАК последовательное экстрагирование форм элементов из почв относится к методам фракционирования элементов [5]. Главным принципом такого фракционирования является то, что каждый последующий выщелачивающий реагент должен быть либо сильнее предыдущего по химическому воздействию, либо иметь другую природу [4]. Выщелачивающие растворы применяют в порядке увеличения их реакционной способности: от растворов нейтральных солей до сильных кислот. При этом уменьшается подвижность и биологическая доступность извлекаемых элементов: от подвижной фракции (обменные ионы) до неподвижной (элементы, входящие в состав кристаллической решетки минералов) [6].

В большинстве работ, посвященных фракционированию РЗЭ в почвах, применяют схемы, изначально предложенные для фракционирования тяжелых металлов (ТМ) [6–9], в основном это схемы ВСР [10] и Тессье [11]. Недавно Миттермюллер и соавт. [12] разработали схему фракционирования именно для РЗЭ с акцентом на оценку их подвижности и потенциальной биологической доступности.

Последовательное экстрагирование (фракционирование) элементов обычно проводят в статическом режиме, который неизбежно влечет за собой проблемы реадсорбции элементов и перекрывания выделяемых фракций. Это может привести к некорректной оценке содержания элементов, связанных с различными органоминеральными фазами почв. Динамический режим фракционирования позволяет избежать таких проблем, поскольку он обеспечивает высвобождение элементов при постоянном обновлении растворов реагентов, т.е. в условиях, сопоставимых с природными [3].

Цель настоящей работы – сравнительное изучение двух перспективных схем фракционирования РЗЭ в почвах с использованием режима динамического экстрагирования. В качестве первой

схемы выбрали последовательность реагентов, предложенную Федотовым и соавт. [13] для фракционирования форм ТМ. Согласно данной схеме, уже опробованной при динамическом фракционировании форм РЗЭ [14, 15], выделяют пять экстрагируемых фракций, которые можно условно назвать обменной, специфически сорбированной, связанной с оксидами марганца, связанной с органическим веществом и связанной с аморфными и слабо окристаллизованными оксидами железа и алюминия, с применением соответственно 0.05 М раствора $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0.43 М CH_3COOH , 0.1 М раствора $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (рН 3.6), 0.1 М раствора $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$ (рН 11.0) и 0.1 М раствора $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ (рН 3.2). По второй схеме, разработанной Миттермюллером и соавт. [12] для фракционирования форм РЗЭ, выделяют легкорастворимые соединения и обменные ионы, связанную с карбонатами, восстанавливаемую и кислоторастворимую фракции с применением соответственно 0.05 М раствора $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0.1 М лимонной кислоты, 0.05 М раствора $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (рН 2.0) и 1.4 М HNO_3 .

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследуемые образцы. Объектами исследования были образцы фоновых незагрязненных почв – дерново-подзолистой и чернозема. Образец сельскохозяйственной дерново-подзолистой почвы отбирали из поверхностного горизонта (0–20 см) на экспериментальной площадке Почвенного института им. В.В. Докучаева РАН в Московской области. Образец типичного чернозема отбирали в лесополосе в Курской области (также из поверхностного горизонта). Свойства данных почв подробно описаны ранее [15]. Исходные образцы почв сушили на воздухе, растирали и просеивали через сито с диаметром отверстий 0.25 мм.

Реагенты. Для приготовления экстрагирующих растворов использовали реагенты квалификации ос. ч.: нитрат кальция, уксусную кислоту, гидроксид аммония, гидрохлорид, пиррофосфат калия, ацетат аммония, гидроксид калия, азотную кислоту, лимонную кислоту. Растворы готовили каждый месяц применением сверхчистой воды (Type I. ASTM D1193) с удельным сопротивлением 18.2 Мом/см (Millipore Simplicity. Франция). Квалификация реагентов, используемых для кислотного разложения твердых образцов, подробно описана ниже.

Динамическое фракционирование форм элементов. Для динамического фракционирования форм элементов использовали планетарную центрифугу, оснащенную спиральной вращающейся колонкой из политетрафторэтилена внутренним диаметром 1.6 мм и объемом 30 мл с учетом подводящих путей (Институт аналитического приборостроения).

ростроения РАН, Россия). Подробное описание устройства приведено в работах [14, 16].

Перед началом работы колонку промывали раствором, состоящим из 150 мл этанола, 20 мл азотной кислоты и 330 мл сверхчистой воды в течение 1 ч со скоростью потока 1 мл/мин, затем в течение 30 мин сверхчистой водой. После этого колонку заполняли 10 мл 0.05 М раствора $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. В тefлоновую пробирку помещали образец почвы массой 500 мг, добавляли 5 мл 0.05 М раствора $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Полученную суспензию вводили в колонку со скоростью потока 1 мл/мин, затем в пробирку добавляли еще 5 мл 0.05 М раствора $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, чтобы удалить частицы почвы со стенок пробирки. Эту суспензию также вводили в колонку. Затем с этой же скоростью прокачивали 10 мл того же элюента. После этого колонку приводили во вращение (650 об/мин) и через 5 мин начинали подавать 0.05 М раствор $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ с помощью перистальтического насоса со скоростью 1 мл/мин. Каждый следующий выщелачивающий раствор (элюент) подавали с той же скоростью без остановки устройства. Для построения кривых элюирования РЗЭ отбирали последовательно фракции элюата объемом 15 мл. После окончания экстрагирования образец почвы удаляли из остановленной колонки путем прокачивания сверхчистой воды со скоростью 30 мл/мин и центрифугировали при скорости вращения 2500 об/мин в течение 15 мин. Затем образец (остаточную фракцию) подвергали кислотному разложению. Каждый опыт повторяли три раза.

Определение содержания элементов в исходном образце, экстрагируемых и остаточной фракциях. Содержание элементов в исходных образцах и остаточной фракции определяли методами атомно-эмиссионной спектроскопии и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП). Образцы помещали в тefлоновые стаканы объемом 50 мл, добавляли 0.5 мл HClO_4 (хлорная кислота, 70%, Suprapur, Merck), 3 мл HF (плавиковая кислота, 40%, ISO, Merck), 0.5 мл HNO_3 (азотная кислота, 65%, макс. 0.0000005% Hg, ISO, Merck) и 0.1 мл раствора изотопов Nd^{146} , Dy^{161} , Yb^{174} , необходимых для контроля полноты разложения. Затем образцы кипятили при 180–200°C до появления густых паров белого цвета. После охлаждения проб в химические стаканы добавляли по 3 мл деионизованной воды и снова упаривали образцы. После этого добавляли 2 мл HCl (соляная кислота, 37%, ISO, Merck) 0.2 мл 0.1 М H_3BO_3 и растворы упаривали до объема 0.6 мл каждый. Полученные растворы переносили в полиэтиленовые бюксы, добавляли 0.2 мл стандартного раствора, содержащего 1 мг/л индия (в качестве внутреннего стандарта) и доводили объем растворов деионизованной водой до 20 мл [17]. Процедуру разложения контрольных растворов (без добавле-

ния образца) проводили в трех тefлоновых стаканах. Правильность результатов контролировали анализом стандартного образца Трапп СТ-2а (ГСО 8671-2005). Результаты определения элементов в стандартном образце попали в доверительный интервал аттестованного значения.

Содержание элементов в выделенных фракциях определяли методом МС-ИСП (Agilent 7900, Япония) при следующих параметрах работы прибора: выходная мощность генератора 1550 Вт, микроконцентрический распылитель MicroMist, кварцевая охлаждаемая распылительная камера (2 С), расход плазмообразующего потока аргона 15 л/мин, расход потока аргона в распылителе 1.01 л/мин, скорость подачи анализируемого образца 1 мл/мин. В качестве внутреннего стандарта применяли родий. Все растворы экстрактов подкисляли 20 мкл 65%-ной HNO_3 (макс. 0.0000005% Hg, ISO, Merck). Контрольные растворы каждого экстрагента анализировали совместно с растворами соответствующих фракций.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Динамическое фракционирование форм РЗЭ в исследуемых образцах почв. Результаты динамического фракционирования форм РЗЭ, полученные при использовании двух последовательностей реагентов, представлены в табл. 1 и 2. Как видно, суммарное содержание РЗЭ в экстрагируемых и остаточной фракциях удовлетворительно соответствует валовому содержанию элементов. Степень извлечения РЗЭ при применении 5-стадийной схемы составляет от 89 до 110% от их валового содержания. Для 4-стадийной схемы эта величина составляет 81–108%. Такая погрешность является вполне приемлемой при использовании схем последовательного экстрагирования [14, 18] и подтверждает достоверность полученных результатов.

На рис. 1 представлены кривые элюирования РЗЭ из образцов дерново-подзолистой почвы и типичного чернозема, полученные при динамическом фракционировании с применением 5- и 4-стадийной схем экстрагирования. В качестве примера приведены кривые для La, Ce и Nd как наиболее представительных элементов, принадлежащих к группе РЗЭ [1, 19]. Как видно из рис. 1, при использовании 5-стадийной схемы основная часть экстрагируемых РЗЭ высвобождается в виде металлорганических комплексов, извлекаемых 0.1 М раствором пиррофосфата калия. В черноземе преобладают металлорганические комплексы РЗЭ (от 15 до 25% от валового содержания элементов). Около 3% РЗЭ связано с аморфными и слабокристаллизованными оксидами железа и алюминия (умеренно восстанавливаемая фракция) в обоих образцах почв. Для дерново-подзо-

Таблица 1. Результаты фракционирования форм РЗЭ (мг/кг) по пятистадийной схеме* ($n = 3, P = 0.95$) [15]

Элемент	I Водорастворимая и обменная фракции (0.05 М р-р $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$)	II Кислоторастворимая фракция (0.43 М CH_3COOH)	III Легко восстанавливаемая фракция (0.1 М р-р $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, рН 3.6)	IV Фракция, экстрагируемая пирофосфатом калия (0.1 М р-р $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$, рН 11.0)	V Умеренно-восстанавливаемая фракция (0.1 М р-р $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$, рН 3.2)	Остаточная фракция	Сумма экстрагируемых и остаточной фракции	Валовое содержание	Степень извлечения, %
Дерново-подзолистая почва									
La	0.18 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.25 ± 0.03	2.5 ± 0.2	0.9 ± 0.1	23 ± 2	27 ± 3	28 ± 3	98
Ce	0.21 ± 0.05	0.32 ± 0.03	0.45 ± 0.05	7.2 ± 0.6	2.5 ± 0.3	47 ± 3	58 ± 5	60 ± 5	97
Pr	0.020 ± 0.002	0.035 ± 0.005	0.036 ± 0.005	0.10 ± 0.02	0.25 ± 0.01	5.0 ± 0.5	6.0 ± 0.7	6.2 ± 0.5	97
Nd	0.062 ± 0.005	0.12 ± 0.01	0.14 ± 0.02	3.0 ± 0.3	1.0 ± 0.2	20 ± 2	24 ± 2	24 ± 2	100
Sm	0.007 ± 0.001	0.020 ± 0.002	0.023 ± 0.001	0.8 ± 0.1	0.14 ± 0.02	3.6 ± 0.4	4.6 ± 0.4	4.6 ± 0.4	99
Eu	<ПО	<ПО	<ПО	0.13 ± 0.02	0.040 ± 0.004	0.65 ± 0.01	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.1	101
Gd	0.011 ± 0.001	0.024 ± 0.001	0.030 ± 0.003	0.63 ± 0.07	0.15 ± 0.02	3.0 ± 0.2	3.7 ± 0.3	3.5 ± 0.4	105
Tb	<ПО	<ПО	<ПО	0.10 ± 0.02	0.022 ± 0.002	0.42 ± 0.04	0.52 ± 0.05	0.54 ± 0.04	95
Dy	<ПО	0.020 ± 0.002	0.025 ± 0.005	0.50 ± 0.05	0.12 ± 0.01	2.5 ± 0.3	3.2 ± 0.4	3.1 ± 0.3	102
Ho	<ПО	<ПО	<ПО	0.10 ± 0.02	0.017 ± 0.002	0.52 ± 0.05	0.63 ± 0.06	0.58 ± 0.04	107
Er	<ПО	0.011 ± 0.001	0.017 ± 0.002	0.34 ± 0.04	0.05 ± 0.005	1.5 ± 0.1	2.0 ± 0.2	1.8 ± 0.2	108
Tm	<ПО	<ПО	<ПО	<ПО	<ПО	0.24 ± 0.02	0.24 ± 0.05	0.30 ± 0.02	89
Yb	<ПО	0.007 ± 0.001	0.010 ± 0.001	0.20 ± 0.02	0.024 ± 0.002	1.7 ± 0.2	2.0 ± 0.2	2.0 ± 0.2	95
Lu	<ПО	<ПО	<ПО	0.030 ± 0.004	<ПО	0.30 ± 0.03	0.30 ± 0.02	0.30 ± 0.05	101
Типичный чернозем									
La	0.10 ± 0.01	0.063 ± 0.005	0.066 ± 0.007	7.0 ± 0.5	1.5 ± 0.1	21 ± 2	30 ± 3	31 ± 3	97
Ce	0.13 ± 0.01	0.23 ± 0.02	0.10 ± 0.01	16. ± 2	3.6 ± 0.3	44. ± 4	64 ± 5	65 ± 6	99
Pr	0.013 ± 0.001	0.016 ± 0.001	0.008 ± 0.001	2.0 ± 0.2	0.42 ± 0.04	4.7 ± 0.3	7.2 ± 0.7	7.3 ± 0.7	98
Nd	0.060 ± 0.005	0.070 ± 0.005	0.032 ± 0.002	8 ± 1	1.7 ± 0.2	18 ± 2	27 ± 2	28 ± 4	101
Sm	0.012 ± 0.001	0.020 ± 0.002	0.008 ± 0.001	1.8 ± 0.2	0.40 ± 0.03	3.2 ± 0.4	5.5 ± 0.5	5.5 ± 0.4	99
Eu	0.007 ± 0.001	<ПО	<ПО	0.36 ± 0.03	0.08 ± 0.01	0.62 ± 0.05	1.0 ± 0.1	0.98 ± 0.08	110
Gd	0.012 ± 0.001	0.012 ± 0.001	0.008 ± 0.001	1.7 ± 0.2	0.42 ± 0.05	2.6 ± 0.	4.8 ± 0.5	4.4 ± 0.4	110
Tb	<ПО	<ПО	<ПО	0.22 ± 0.02	0.064 ± 0.007	0.36 ± 0.03	0.65 ± 0.05	0.65 ± 0.05	100
Dy	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.006 ± 0.001	1.4 ± 0.1	0.36 ± 0.05	2.2 ± 0.2	3.9 ± 0.3	3.7 ± 0.3	107
Ho	<ПО	<ПО	<ПО	0.23 ± 0.02	0.066 ± 0.005	0.43 ± 0.05	0.73 ± 0.08	0.70 ± 0.05	106
Er	0.0034 ± 0.0004	0.013 ± 0.003	<ПО	0.80 ± 0.07	0.17 ± 0.02	1.4 ± 0.1	2.4 ± 0.1	2.1 ± 0.2	113
Tm	<ПО	<ПО	<ПО	0.08 ± 0.001	0.020 ± 0.001	0.21 ± 0.02	0.31 ± 0.03	0.29 ± 0.02	107
Yb	<ПО	0.006 ± 0.001	<ПО	0.60 ± 0.05	0.10 ± 0.01	1.5 ± 0.1	2.2 ± 0.2	2.2 ± 0.2	99
Lu	<ПО	<ПО	<ПО	0.10 ± 0.02	0.011 ± 0.001	0.23 ± 0.02	0.33 ± 0.03	0.31 ± 0.03	106

* Название фракций дано согласно источнику [15].

Таблица 2. Результаты фракционирования форм РЗЭ (мг/кг) по четырехстадийной схеме* ($n = 3, P = 0.95$)

Элемент	I Легкорастворимые соединения и обменные ионы (0.05 М р-р Ca(NO ₃) ₂)	II Фракция, связанная с карбонатами и комплексные соединения (0.1 М лимонная кислота)	III Восстанавливаемая фракция (0.05 М р-р NH ₂ OH·HCl, рН 2.0)	IV Кислото- растворимая фракция (1.4 М HNO ₃)	Остаточная фракция	Сумма экстрагируемых и остаточной фракции	Валовое содержание	Степень извлече- ния, %
Дерново-подзолистая почва								
La	0.40 ± 0.05	0.50 ± 0.02	0.9 ± 0.1	2.5 ± 0.2	20 ± 4	24 ± 2	28 ± 3	86
Ce	0.53 ± 0.10	1.6 ± 0.1	2.4 ± 0.5	6.7 ± 0.5	40 ± 5	51 ± 3	60 ± 5	85
Pr	0.044 ± 0.005	0.20 ± 0.01	0.17 ± 0.02	0.70 ± 0.04	4.2 ± 0.3	5.3 ± 0.6	6.2 ± 0.5	86
Nd	0.15 ± 0.02	0.80 ± 0.03	0.65 ± 0.13	2.6 ± 0.1	16 ± 2	20 ± 3	24 ± 2	83
Sm	<ПО	0.21 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.52 ± 0.05	3.0 ± 0.5	3.9 ± 0.3	4.6 ± 0.4	83
Eu	<ПО	0.06 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.55 ± 0.04	0.76 ± 0.05	0.8 ± 0.1	94
Gd	0.030 ± 0.005	0.20 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.43 ± 0.01	2.2 ± 0.4	3.0 ± 0.4	3.5 ± 0.4	84
Tb	<ПО	0.04 ± 0.01	0.020 ± 0.005	0.054 ± 0.010	0.33 ± 0.06	0.45 ± 0.09	0.54 ± 0.04	81
Dy	0.020 ± 0.003	0.18 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.31 ± 0.04	2.0 ± 0.4	2.6 ± 0.2	3.1 ± 0.3	83
Ho	<ПО	0.035 ± 0.002	0.017 ± 0.002	0.05 ± 0.01	0.42 ± 0.07	0.52 ± 0.02	0.58 ± 0.04	88
Er	0.010 ± 0.002	0.10 ± 0.01	0.042 ± 0.005	0.12 ± 0.01	1.3 ± 0.3	1.6 ± 0.1	1.8 ± 0.2	85
Tm	<ПО	0.014 ± 0.001	<ПО	0.014 ± 0.002	0.20 ± 0.03	0.23 ± 0.01	0.30 ± 0.02	85
Yb	<ПО	0.084 ± 0.002	0.028 ± 0.004	0.08 ± 0.01	1.5 ± 0.3	1.7 ± 0.3	2.0 ± 0.2	82
Lu	<ПО	0.012 ± 0.001	0.90 ± 0.15	0.012 ± 0.002	0.23 ± 0.03	0.25 ± 0.02	0.30 ± 0.05	85
Типичный чернозем								
La	0.12 ± 0.02	0.70 ± 0.06	2.2 ± 0.3	6.7 ± 0.5	17 ± 1	27 ± 2	31 ± 3	87
Ce	0.140 ± 0.020	1.50 ± 0.04	4.2 ± 0.8	16 ± 2	36 ± 1	58 ± 1	65 ± 6	89
Pr	0.016 ± 0.003	0.220 ± 0.003	0.46 ± 0.08	2.0 ± 0.2	4.0 ± 0.5	6.6 ± 0.5	7.3 ± 0.7	91
Nd	0.062 ± 0.010	1.00 ± 0.11	1.8 ± 0.3	8.0 ± 0.5	14.8 ± 0.3	25.7 ± 0.1	28 ± 4	93
Sm	0.010 ± 0.002	0.22 ± 0.01	0.35 ± 0.06	1.6 ± 0.1	2.7 ± 0.2	4.9 ± 0.1	5.5 ± 0.4	89
Eu	0.020 ± 0.002	0.067 ± 0.008	0.083 ± 0.013	0.35 ± 0.02	0.472 ± 0.054	1.0 ± 0.2	0.98 ± 0.08	101
Gd	0.014 ± 0.003	0.22 ± 0.02	0.34 ± 0.05	1.5 ± 0.2	2.2 ± 0.4	4.3 ± 0.5	4.4 ± 0.4	98
Tb	<ПО	0.040 ± 0.006	0.051 ± 0.006	0.30 ± 0.05	0.30 ± 0.04	0.70 ± 0.01	0.65 ± 0.05	108
Dy	0.007 ± 0.001	0.20 ± 0.01	0.30 ± 0.04	1.3 ± 0.2	1.7 ± 0.2	3.6 ± 0.1	3.7 ± 0.3	97
Ho	<ПО	0.042 ± 0.002	0.055 ± 0.011	0.23 ± 0.05	0.35 ± 0.05	0.70 ± 0.04	0.70 ± 0.05	102
Er	<ПО	0.13 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.57 ± 0.06	1.1 ± 0.2	1.9 ± 0.2	2.1 ± 0.2	90
Tm	<ПО	0.017 ± 0.001	0.017 ± 0.003	0.066 ± 0.010	0.16 ± 0.03	0.27 ± 0.03	0.29 ± 0.02	91
Yb	<ПО	0.123 ± 0.005	0.084 ± 0.007	0.43 ± 0.05	1.3 ± 0.3	1.9 ± 0.1	2.2 ± 0.2	86
Lu	<ПО	0.018 ± 0.002	0.015 ± 0.003	0.067 ± 0.007	0.20 ± 0.02	0.30 ± 0.01	0.31 ± 0.03	98

* Название фракций дано согласно источнику [12].

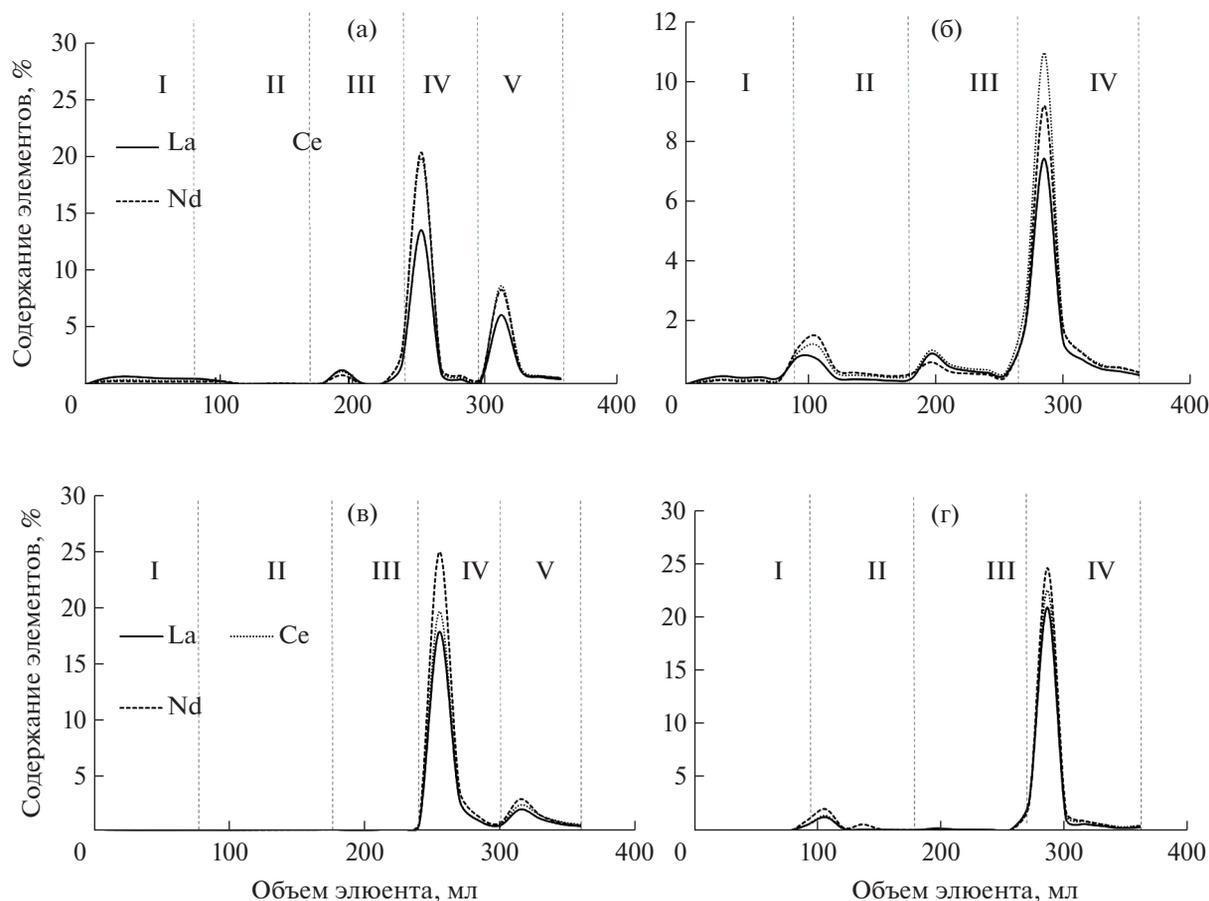


Рис. 1. Экстрактограммы РЗЭ для исследуемых образцов дерново-подзолистой почвы (а), (б) и типичного чернозема (в), (г), полученные при использовании пятистадийной (а), (в) и четырехстадийной (б), (г) схем фракционирования.

листой почвы незначительная доля La, Ce и Nd (до 1%) элюируется в обменную и связанную с оксидами марганца (легко восстанавливаемую) фракции. При использовании 4-стадийной схемы (рис. 1) основная доля РЗЭ извлекается 1.4 М азотной кислотой в виде кислоторастворимых форм (до 25% от валового содержания РЗЭ для типичного чернозема и до 12% для дерново-подзолистой почвы). Следует отметить, что, тенденции, описанные для La, Ce и Nd, наблюдаются и для других РЗЭ.

На рис. 2 представлены диаграммы распределения РЗЭ между экстрагируемыми фракциями дерново-подзолистой почвы и типичного чернозема, выделенными при использовании 5- и 4-стадийной схем фракционирования. Согласно результатам, полученным по 5-стадийной схеме, среди экстрагируемых форм РЗЭ преобладают соединения, предположительно связанные с органическим веществом. Пирофосфат калия извлекает от 10% (La, Ce) до 17% (Eu, Gd) от валового содержания РЗЭ из дерново-подзолистой почвы и от 24% (La, Ce) до 40% (Eu, Gd) из типичного чернозема. Заметную роль в связывании

РЗЭ, по-видимому, могут играть аморфные и слабоокристаллизованные оксиды железа и алюминия (умеренно-восстанавливаемая фракция). Эта фракция содержит до 4% РЗЭ в дерново-подзолистой почве и до 10% РЗЭ в типичном черноземе. Доля первых трех фракций РЗЭ не превышает 1% для обеих почв.

При использовании 4-стадийной схемы (рис. 2б, 2г) основная доля РЗЭ экстрагируется 1.4 М азотной кислотой в виде кислоторастворимых форм: от 12% РЗЭ из дерново-подзолистой почвы и до 30% РЗЭ из типичного чернозема. Содержание РЗЭ в восстанавливаемой фракции (0.05 М раствор $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, pH 2.0) составляет 4–8% для исследуемых образцов почв. Незначительные отличия содержания РЗЭ в экстрагируемой 0.05 М раствором нитрата кальция фракции, полученные при использовании двух схем, возможно, обусловлены неоднородным распределением элементов между органоминеральными фазами почв.

Сравнительное изучение результатов применения двух схем фракционирования форм РЗЭ в дина-

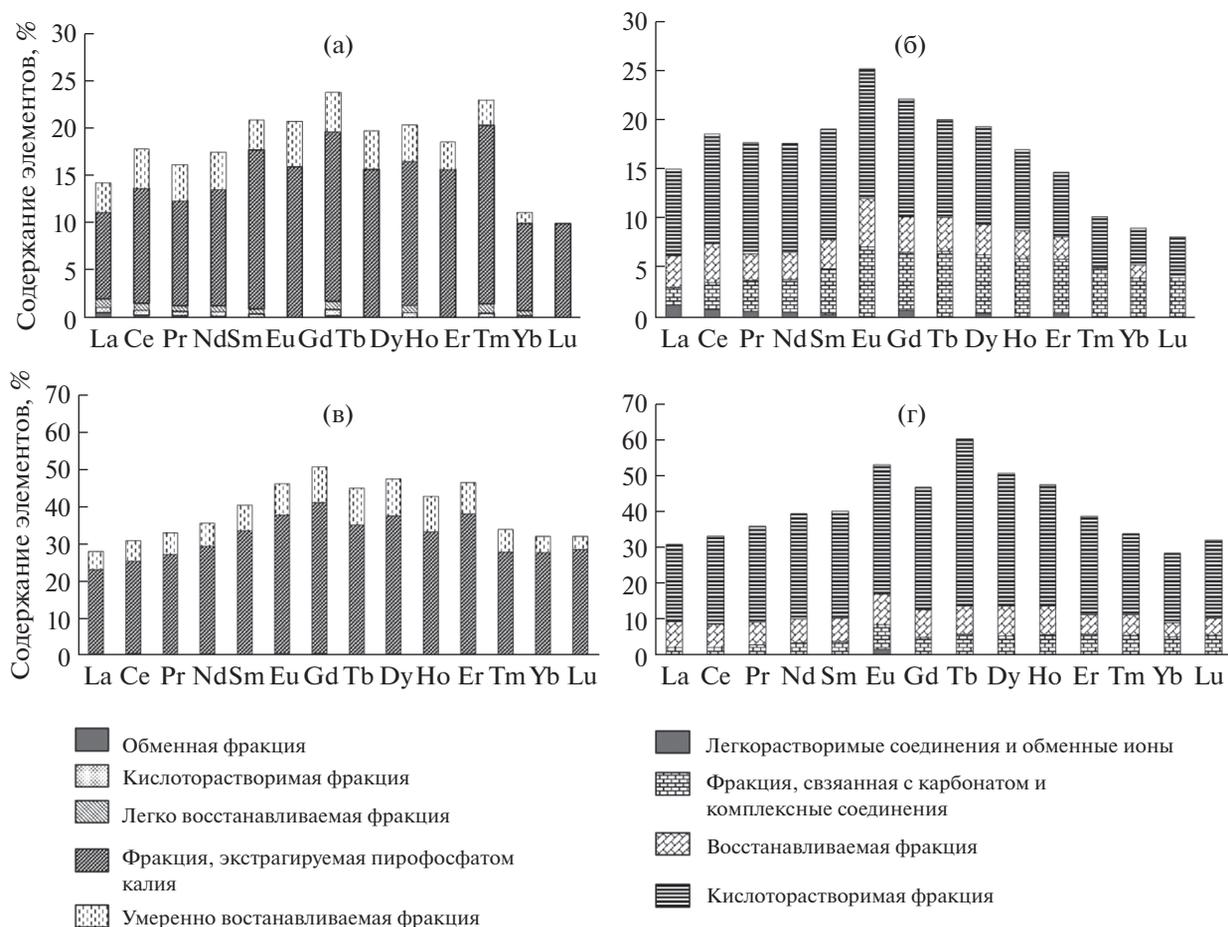


Рис. 2. Распределение РЗЭ в исследуемых образцах дерново-подзолистой почвы (а), (б) и типичного чернозема (в), (г), полученное при использовании пятистадийной (а), (в) и четырехстадийной (б), (г) схем фракционирования.

мическом режиме. Сопоставление результатов фракционирования по двум схемам (рис. 3) показало, что содержание La, Ce и Nd в кислоторастворимой фракции, извлекаемой 1.4 М азотной кислотой по 4-стадийной схеме Миттермюллера, хорошо соответствует содержанию этих элементов, извлекаемых пирофосфатом калия по 5-стадийной схеме и предположительно представленными комплексами металлов с органическим веществом. Для других РЗЭ тенденция сохраняется, однако в случае дерново-подзолистой почвы пирофосфат калия более эффективно извлекает тяжелые РЗЭ (Tb–Lu), чем азотная кислота (рис. 2). Также можно отметить, что для обоих образцов почв сопоставимые содержания всех РЗЭ обнаружены в восстанавливаемой (0.05 М раствор $\text{NH}_2\text{OH HCl}$ при pH 2.0, схема Миттермюллера) и умеренно восстанавливаемой (0.1 М раствор $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ при pH 3.2, 5-стадийная схема) фракциях.

Экстрагенты, используемые в 5-стадийной схеме, способны более или менее селективно растворять различные органоинеральные фазы

почв [13]. Так, 0.05 М раствор нитрата кальция используют в качестве реагента, который вытесняет обменную фракцию (ионы РЗЭ, удерживаемые органоинеральными фазами почвы за счет электростатических сил). По мнению Ладонина [20], применение экстрагента с такой концентрацией считается оптимальным. Для экстрагирования РЗЭ, находящихся в кислоторастворимой фракции (РЗЭ, связанные с карбонатами в карбонатных почвах и специфически сорбированные ионы РЗЭ на поверхности глинистых минералов, оксидов железа, марганца, алюминия и органического вещества в некарбонатных почвах) обычно применяют 0.1–0.43 М растворы уксусной кислоты. Ладонин [20] рекомендовал использование 0.43 М уксусной кислоты. Неподкисленный 0.1 М раствор гидроксиламина гидрохлорида с pH 3.6 применяют для растворения оксидов марганца без существенного воздействия на другие компоненты почв (оксиды и гидроксиды железа и алюминия, органическое вещество) [21]. 0.1 М раствор пирофосфата калия при pH 11.0 применяют для извлечения РЗЭ, находящихся в виде ком-

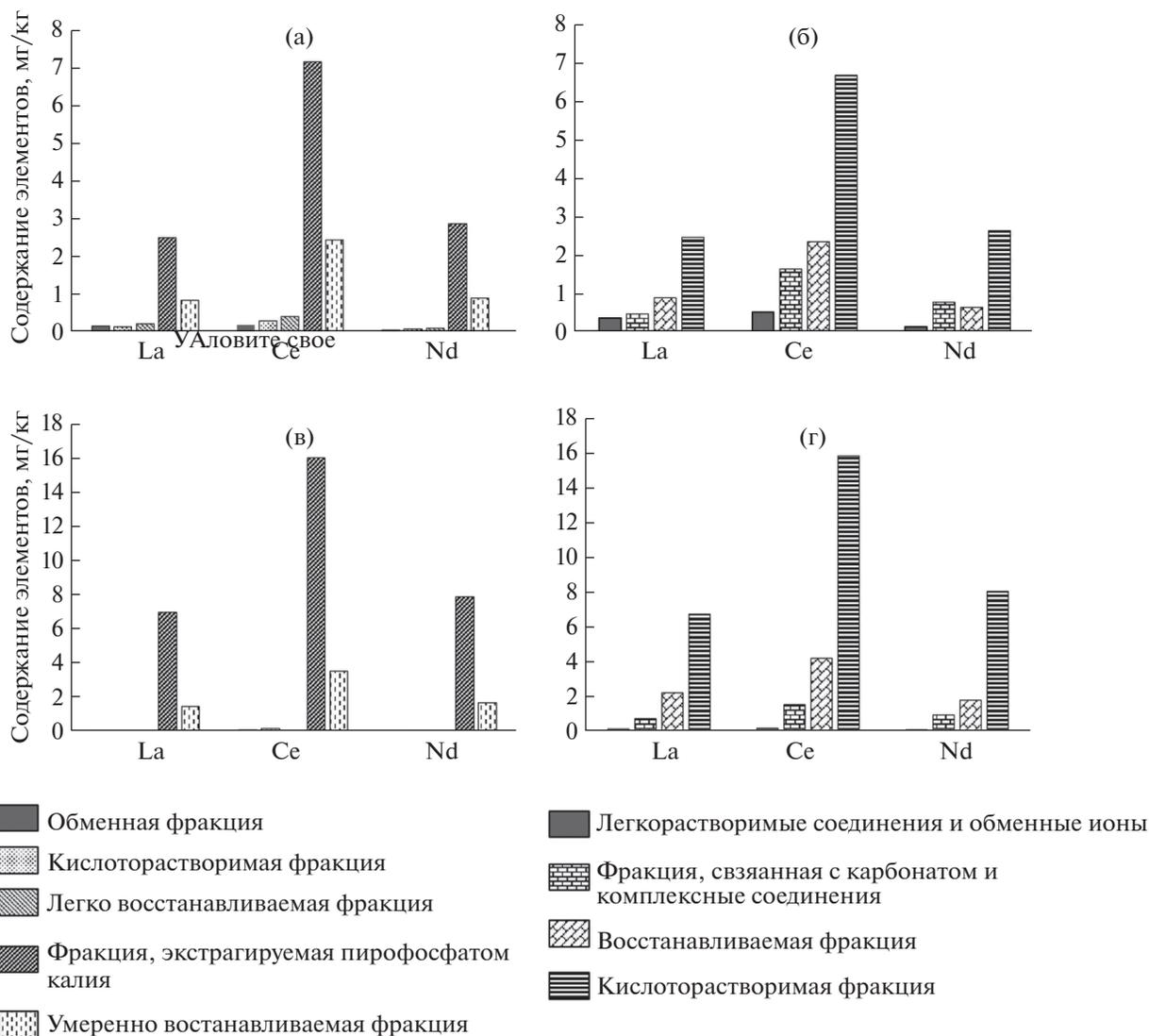


Рис. 3. Сопоставление результатов, полученных для образцов дерново-подзолистой почвы (а), (б) и чернозема (в), (г) при использовании пятистадийной (а), (в) и четырехстадийной (б), (г) схем фракционирования РЗЭ.

плексов с органическим веществом. Отмечено, что при применении этого реагента в раствор могут переходить элементы, связанные с оксидами марганца, поэтому последние (легко восстанавливаемая фракция) необходимо выделять перед применением пирофосфата калия [3]. Использование реактива Тамма (0.1 М раствор $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$, рН 3.2) приводит к растворению аморфных и слабо окристаллизованных оксидов железа и алюминия [22], при этом ионы РЗЭ переходят в раствор.

Согласно данным [3, 6, 9], 4-стадийная схема не является селективной по отношению к растворимым органоминеральным фазам почвы, так как применяемые реагенты, за исключением 0.05 М раствора нитрата кальция, извлекают элементы, связанные с несколькими компонентами почвы. Применение 0.1 М лимонной кислоты

приводит к частичному растворению оксигидроксидов железа и алюминия [23, 24], а также органического вещества [14] с последующим высвобождением РЗЭ в виде цитратных комплексов в раствор. 0.05 М раствор гидроксиламина гидрохлорида при рН 2 выщелачивает не только РЗЭ, связанные с оксидами марганца, но и связанные с оксидами железа и алюминия [25] и частично с органическим веществом [3]. В практике химического анализа почв 1 М азотную кислоту применяют для оценки потенциально подвижных соединений: обменных ионов, сорбированных почвенными компонентами, ионов металлов в виде комплексов с органическим веществом, карбонатов [26]. На основании полученных в настоящем исследовании данных можно предположить, что 1.4 М азотная кислота достаточно эффективно

растворяет комплексы РЗЭ с органическим веществом.

Важным с точки зрения химии окружающей среды результатом является высокое содержание РЗЭ в остаточной фракции. Как следует из табл. 1, 2 и рис. 2, на остаточную фракцию приходится в среднем 75–90% от валового содержания РЗЭ в дерново-подзолистой почве и 50–70% в черноземе.

В целом, несмотря на существенные различия двух схем фракционирования форм РЗЭ, полученные с их использованием результаты оказались сопоставимыми. Таким образом, обе схемы могут быть применены при динамическом фракционировании форм РЗЭ в почвах. Пятистадийная схема, однако, является предпочтительной, поскольку используемые экстрагенты достаточно селективны по отношению к растворяемым органоминеральным фазам почв, что позволяет получить более четкую картину распределения форм РЗЭ.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 19-05-50016 (фракционирование форм РЗЭ по пятистадийной схеме). Исследование соответствует теме № 0116-2019-0010 ГЕОХИ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Hu Z., Haneklaus S., Sparovek G., Schnug E.* Rare earth elements in soils // *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 2006. V. 37. P. 1381
2. *Белюченко И.С., Муравьев Е.И.* Влияние отходов промышленного и сельскохозяйственного производства на физико-химические свойства почв // *Экол. Вестник Сев. Кавказа.* 2009. Т. 5. № 1. С. 84.
3. *Федотов П.С., Спиваков Б.Я.* Статические и динамические методы фракционирования форм элементов в почвах, илах и донных отложениях // *Успехи химии.* 2008. Т. 77. № 7. С. 690. (*Fedotov P.S., Spivakov B.Ya.* Fractionation of elements in soils, sludges and sediments: Batch and dynamic methods // *Russ. Chem. Rev.* 2008. V. 77. № 7. P. 649.)
4. *Федотов П.С.* Вращающиеся спиральные колонки в вещественном анализе природных образцов: динамическое фракционирование форм элементов в почвах, илах и донных отложениях // *Журн. аналит. химии.* 2012. Т. 67. № 5. С. 453. (*Fedotov P.S.* Rotating coiled columns in the speciation analysis of natural samples: Dynamic fractionation of element forms in soils, sludges, and bottom sediments // *J. Anal. Chem.* 2012. V. 67. № 5. P. 399.)
5. *Templeton D.M., Ariese F., Cornelis R., Danielsson L.-G., Muntau H., van Leeuwen H.P., Lobinski R.* Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC recommendations 2000 // *Pure Appl. Chem.* 2000. V. 72. № 8. P. 1453.
6. *Filgueiras A.V., Lavilla I., Bendicho C.* Chemical sequential extraction for metal partitioning in the environmental solid samples // *J. Environ. Monit.* 2002. V. 4. № 6. P. 823.
7. *McLaren R.G., Crawford D.W.* Studies on soil copper. 1. The fractionation of copper in soils // *J. Soil Sci.* 1973. V. 24. № 2. P. 172.
8. *Krishnamurti G.S.R., Huang P.M., Van Rees K.C.J., Kozak L.M., Rostad H.P.W.* Speciation of particulate-bound cadmium of soils and its bioavailability // *Analyst.* 1995. V. 120. P. 659.
9. *Gleyzes C., Tellier S., Astruc M.* Fractionation studies of trace elements in contaminated soils and sediments: A review of sequential extraction procedures // *Trends Anal. Chem.* 2002. V. 21. P. 451.
10. *Rauret G., Lopez-Sanchez J.F., Sahuquillo A., Rubio R., Davidson C., Ure A., Quevauviller P.* Improvement of the BCR three-step sequential extraction procedure prior to the certification of new sediment and soil reference materials // *J. Environ. Monit.* 1999. V. 1. P. 57.
11. *Tessier A., Campbell P.G.C., Bisson M.* Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace // *Anal. Chem.* 1979. V. 51. № 7. P. 844.
12. *Mittermuller M., Saatz J., Daus B.* A sequential extraction procedure to evaluate the mobilization behavior of rare earth elements in soils and tailings materials // *Chemosphere.* 2016. V. 147. P. 155.
13. *Fedotov P.S., Savonina E. Yu., Wennrich R., Spivakov B. Ya.* A hyphenated flow-through analytical system for the study of the mobility and fractionation of trace and major elements in environmental solid samples // *Analyst.* 2006. V. 131. P. 509.
14. *Fedotov P.S., Rogova O.B., Dzhendloda R.Kh., Karandashchev V.K.* Metal–organic complexes as a major sink for rare earth elements in soils // *Environ. Chem.* 2019. V. 16. № 5. P. 323.
15. *Rogova O.B., Fedotov P.S., Dzhendloda R.K., Karandashchev V.K.* Fractionation and fixation of rare earths elements in soils: Effect of spiking with lanthanum, cerium, and neodymium chlorides // *J. Rare Earths.* 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jre.2020.12.006>
16. *Дампилова Б.В., Федотов П.С., Дженлода Р.Х., Федюнина Н.Н., Карандашев В.К.* Сравнительное изучение методов оценки подвижности форм элементов в загрязненных почвах и техногенных песках в условиях статического и динамического экстрагирования // *Журн. аналит. химии.* 2017. Т. 72. № 10. С. 944.
17. *Карандашев В.К., Хвостиков В.А., Носенко С.Ю., Бурмий Ж.П.* Использование высокообогащенных стабильных изотопов в массовом анализе образцов горных пород, грунтов, почв и донных отложений методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой // *Заводск. лаборатория. Диагностика материалов.* 2016. Т. 82. № 7. С. 6.
18. *Fedotov P.S., Wennrich R., Stärk H.-J., Spivakov B.Y.* Continuous-flow fractionation of trace metals in environmental solids using rotating coiled columns. Some kinetic aspects and applicability of three-step BCR leaching schemes. // *J. Environ. Monit.* 2005. V. 7. P. 22
19. *Tyler G.* Rare earth elements in soil and plant systems – A review // *Plant Soil.* 2004. V. 267. № 1. P. 191.

20. *Ладонин Д.В.* Формы соединений тяжёлых металлов в техногенно-загрязнённых почвах. Дис. ... док. биол. наук. Москва: Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 2016. 383 с.
21. *Neaman A., Mouele F., Trolard F., Bourrie G.* Improved methods for selective dissolution of Mn oxides: Applications for studying trace element associations // *Appl. Geochem.* 2004. V. 19. P. 973.
22. *Clay Mineralogy: Spectroscopic and Chemical Determinative Methods* / Ed. Wilson M.J. Dordrecht: Springer, 1994. 367 p.
23. *Jones D.L.* Organic acids in the rhizosphere – A critical review // *Plant Soil.* 1998. V. 205. P. 25.
24. *Brioschi L., Steinmann M., Lucot E., Pierret M.C., Stille P., Prunier J., Badot P.M.* Transfer of rare earth elements (REE) from natural soil to plant systems: implications for the environmental availability of anthropogenic REE // *Plant Soil.* 2013. V. 366. P. 143.
25. *Chao T.T.* Selective dissolution of manganese oxides from soils and sediments with acidified hydroxylamine hydrochloride // *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 1972. V. 36. P. 764.
26. Теория и практика химического анализа почв / Под ред. Воробьевой Л.А. М: ГЕОС, 2006. 400 с.

УДК 543.544

СОРБЕНТЫ НА ОСНОВЕ ДИОКСИДА ТИТАНА ДЛЯ ГИДРОФИЛЬНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

© 2021 г. А. С. Попов^а, Е. А. Царенко^а, А. В. Чернобровкина^{а, *}

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

*e-mail: chernobrovkina@analyt.chem.msu.ru

Поступила в редакцию 05.04.2021 г.

После доработки 22.04.2021 г.

Принята к публикации 22.04.2021 г.

Получены неподвижные фазы на основе диоксида титана путем адсорбционного закрепления полиэтиленimina с последующим сшиванием 1,4-бутандиолдиглицидиловым эфиром. Хроматографические свойства сорбентов изучены с помощью теста Танака для гидрофильных неподвижных фаз и на примере разделения модельной смеси водорастворимых витаминов группы В. Показано, что варьирование количества реагентов на стадии синтеза неподвижной фазы влияет на структуру функционального слоя и тем самым позволяет получить сорбент с улучшенными хроматографическими характеристиками.

Ключевые слова: гидрофильная хроматография, синтез сорбентов, диоксид титана, полиэтилен-имин, водорастворимые витамины, тест Танака.

DOI: 10.31857/S004445022110008X

Гидрофильная хроматография (ГИХ) представляет собой современный высокоэффективный метод определения полярных веществ на полярных сорбентах [1]. Благодаря альтернативной селективности ГИХ позволяет избежать традиционных для обращенно-фазовой ВЭЖХ проблем, связанных со слабым удерживанием полярных аналитов и недостаточной эффективностью, а также обеспечивает лучшую растворимость аналитов в подвижной фазе по сравнению с нормально-фазовой (НФ) ВЭЖХ [2].

В настоящее время выбор сорбентов для работы в режиме ГИХ достаточно широк, при этом большинство существующих фаз производится на основе силикагеля [1]. Очевидно, что ограниченный рабочий диапазон рН таких фаз (3–7) существенно ограничивает возможности метода, поскольку выбор подвижной фазы также в значительной степени определяет селективность ГИХ, влияя на состояние поверхности сорбента и аналита [3]. Неорганические основные оксиды металлов, такие как диоксид титана, гидrolитически существенно более устойчивы (рН 1–13), и поэтому перспективны в качестве матриц сорбентов для ГИХ.

Диоксид титана обладает иными свойствами поверхности по сравнению с силикагелем и обеспечивает высокую эффективность и другую селективность разделения полярных веществ бла-

годаря возможности катионо-, анионо- и лигандо-обменных взаимодействий с аналитами. Ранние исследования хроматографических свойств оксидов металлов, в том числе и диоксида титана, в период до 1980-х годов [4–6] были посвящены решению частных прикладных вопросов, таких как экспрессное определение чистоты некоторых стероидов или определение комплексов урана в сточных технологических водах, однако влияние природы таких сорбентов на их хроматографические параметры не изучали. В 1990 г. [7] и позже появились работы, посвященные использованию диоксида титана в качестве сорбента в режиме НФ ВЭЖХ [8], а также изучению его ионообменных [9, 10] и лигандообменных [11–13] свойств. Было отмечено, что в ряде случаев разделяющая способность диоксида титана значительно превосходит таковую для силикагеля.

Первая работа по изучению хроматографических свойств диоксида титана в режиме ГИХ [14] (2008 г.) посвящена разделению нуклеотидов и их интермедиатов. Авторы подробно изучили влияние доли ацетонитрила, концентрации и природы буферного раствора в составе подвижной фазы на хроматографическое поведение аналитов. Показано, что высокое содержание ацетонитрила (больше 50%) способствует реализации механизма ГИХ, обеспечивая лучшие селективность и эффективность [15].

В это же время были опубликованы работы [16, 17], описывающие хроматографическое поведение оснований нуклеиновых кислот и производных пурина на диоксиде титана в режиме ГИХ. Подробно изучено влияние способности аналитов образовывать хелатные комплексы с поверхностью диоксида титана на их удерживание в гидрофильном режиме. Особый интерес представлял вопрос о влиянии природы органического растворителя в составе подвижной фазы. Установлено, что при использовании подвижной фазы ацетонитрил–вода только вода действует в качестве лиганда, который может конкурировать с определяемыми компонентами при содержании менее 70% ацетонитрила в элюенте. Однако при содержании ацетонитрила более 80% удерживание модельных веществ резко возрастает, поскольку содержание воды недостаточно для конкуренции с разделяемыми веществами.

В последующие годы благодаря этим первым работам [14–17] по применению диоксида титана в ГИХ решено немало прикладных задач. Так, в работе [18] предложен простой и быстрый метод определения копростанола и холестерина в образцах сточных вод без какой-либо химической обработки образцов менее чем за 10 мин на колонке с диоксидом титана с использованием подвижной фазы ацетонитрил–вода (9 : 1 по объему). Благодаря комплексному удерживанию полярных аналитов на поверхности диоксида титана за счет гидрофильных и лигандообменных взаимодействий разработана методика определения витамина В₁ в фармацевтических и биогенных объектах без использования ион-парных реагентов [19]. В исследовании [20] выявлена структурная селективность диоксида титана в режиме ГИХ по отношению к моно- и диметилированным ксантинам, отсутствующая у силикагеля и оксида циркония.

Лишь единичные публикации посвящены модифицированию поверхности диоксида титана с целью улучшения хроматографических свойств материала. Так, одной из первых является работа [21] Фреда Ренье 1986 г., в которой описаны новые сорбенты на основе неорганических оксидов, покрытых полиэтиленмином (ПЭИ). Модифицирование проводили в два этапа по методике [22], адаптированной под новые матрицы: адсорбционное закрепление ПЭИ и последующее сшивание 1,4-бутандиолдиглицидиловым эфиром (1,4-БДДГЭ). Показано, что химический состав матрицы сорбента мало влияет на эксплуатационные характеристики покрытия.

Нанесение полимерного слоя на поверхность оксида титана успешно применено в работе [23], посвященной использованию капилляра с диоксидом титана, покрытым политетрагидрофураном, для микроэкстракции в онлайн-сочетании с

ВЭЖХ. Такие капилляры, помимо высокой гидролитической стабильности, продемонстрировали способность обеспечивать одновременную экстракцию неполярных полициклических ароматических углеводородов, умеренно полярных кетонов и полярных фенолов, спиртов и аминов из одного и того же образца с пределами обнаружения на уровне нг/л без предварительной обработки образца.

Таким образом, диоксид титана демонстрирует иную селективность по сравнению с силикагелем благодаря возможности вступать в ион- и лигандообменные взаимодействия. Механическая прочность и гидролитическая стабильность TiO₂ позволяет работать во всем диапазоне pH подвижной фазы, что является ключевым фактором влияния на селективность и эффективность в режиме ГИХ. Именно поэтому диоксид титана представляется перспективной матрицей для получения гидрофильных сорбентов.

Цель работы – получение сорбентов путем покрытия частиц диоксида титана различным количеством полиэтиленмина с последующей сшивкой 1,4-бутандиолдиглицидиловым эфиром, установление их хроматографических характеристик в режиме ГИХ, а также оценка влияния толщины функционального слоя полиэтиленмина и количества сшивающего агента 1,4-БДДГЭ на их хроматографические свойства на примере объектов теста Танака для гидрофильных неподвижных фаз и водорастворимых витаминов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Приборы и материалы. Использовали: рибофлавин, пиридоксина гидрохлорид, цианокобаламин, аскорбиновую кислоту, тиамин, аденозин, урацил, теобромин, теофиллин, уридин, видарабина моногидрат, 5-метилуридин, 2'-деоксиуридин, N,N,N-триметилфениламмония хлорид, тозилат натрия (>98.0%, TCI, Япония); никотинамид, кислоту никотиновую, полиэтиленмин с M_w 800, 1,4-бутандиолдиглицидиловый эфир (>98%, Sigma-Aldrich, США); толуол х. ч. (Компонент-Реактив, Россия); ацетонитрил HPLCgradientgrade (Panreac, Германия); кислоту уксусную ледяную 99.5%, кислоту ортофосфорную 85% х. ч., хлорид калия ч. д. а. (Panreac, Испания); этанол ч. д. а., ацетат аммония ч. д. а. (Лабтех, Россия); ацетон ч. д. а. (Хим-Мед, Россия); 1,4-диоксан ч. д. а. (Компонент-Реактив, Россия).

Для синтеза сорбентов использовали диоксид титана двух полиморфных модификаций: рутил (размер частиц <5 мкм; Sigma-Aldrich/Merck Millipore, США) и анатаз (размер частиц 5 мкм, размер пор 100 Å; Sachtopen®-NP, Sachtleben Chemie GmbH/ZirChrom Separations, Германия); силика-

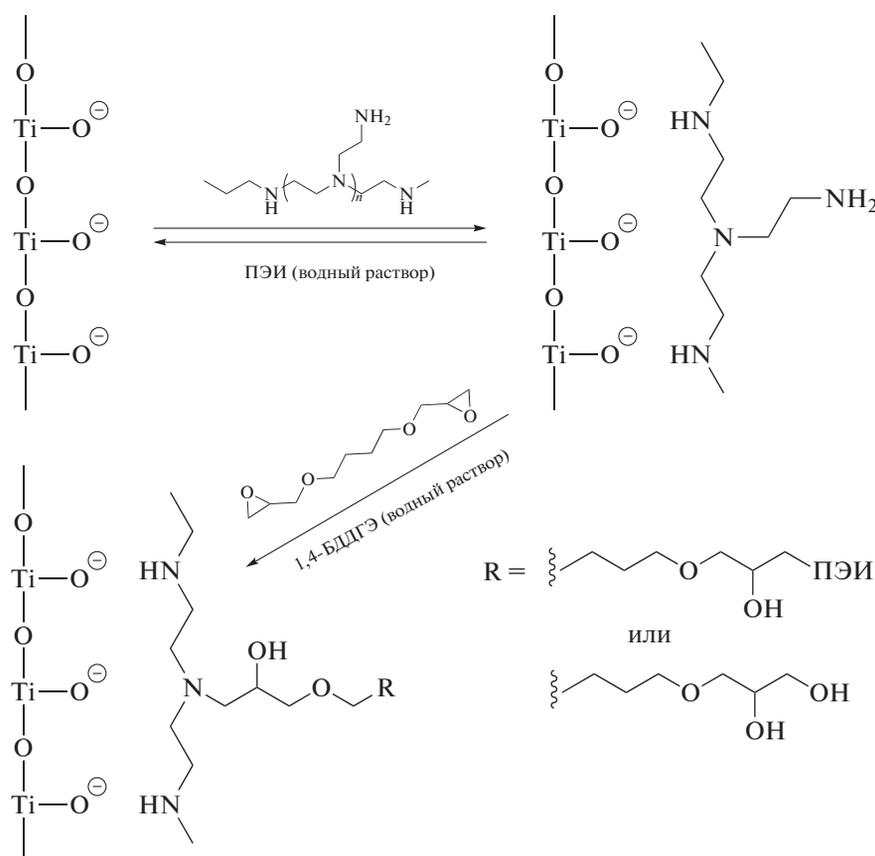


Рис. 1. Схема синтеза и предполагаемая структура сорбентов [21].

гель Kromasil SIL (размер частиц 5.0 мкм, размер пор 100 Å; Nouryon, Швеция).

Эксперименты проводили с помощью системы ВЭЖХ, состоящей из хроматографа Dionex 3000 с двухканальным градиентным насосом, автоматической системой ввода пробы, термостатом колонок и детектором на диодной матрице. Объем вводимой пробы составлял 20 мкл, концентрации индивидуальных витаминов — от 2 до 100 мг/л, фон пробы соответствовал составу подвижной фазы. Для регистрации хроматограмм использовали программный пакет Chromeleon 7 (Thermo Fisher Scientific, США).

Для проведения синтеза применяли следующее оборудование: термостат (Mettmert, Германия), вакуумный насос серии Laboport (KNF Neuberger, Германия), механическую мешалку Eurostar (IKA-Werke, Германия). В работе использовали стальные колонки размером 100 × 3 мм, которые заполняли с помощью пневмонасоса Knauer K-1900 (Knauer, Германия).

Синтез сорбентов и заполнение хроматографических колонок. Навеску диоксида титана помещали в плоскодонную колбу емк. 100 мл, добавляли полиэтиленимин, растворенный в 40 мл деионизованной воды, и перемешивали полученную суспензию на орбитальном шейкере в течение 30 мин. По-

лученный продукт отфильтровывали под вакуумом на стеклянном пористом фильтре, промывали деионизованной водой, после чего сушили на воздухе. Далее продукт помещали в круглодонную колбу емк. 100 мл и добавляли 1,4-БДДГЭ, растворенный в 40 мл деионизованной воды. Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин со скоростью 650 об/мин при 60°C. Схему синтеза иллюстрирует рис. 1. Готовый сорбент отфильтровывали под вакуумом на стеклянном пористом фильтре, промывали деионизованной водой, после чего сушили на воздухе. Количества реагентов, их соотношение и обозначения новых сорбентов приведены в табл. 1.

Сорбент на основе силикагеля (С) с идентичным функциональным слоем (С-ПЭИ_а-Б) синтезировали по этой же методике при массовом отношении реагентов 1 : 1.

Хроматографические колонки заполняли суспензионным способом при давлении 250–300 бар, используя в качестве подвижной фазы деионизованную воду. Для приговления суспензии сорбента на основе TiO₂ использовали смесь 18 мл деионизованной воды и 2 мл 1,4-диоксана. Для приготовления суспензии сорбента С-ПЭИ_а-Б

Таблица 1. Условия получения новых сорбентов

Сорбент	$m(\text{TiO}_2)$, г	$m(\text{ПЭИ})$, г	$V(1,4\text{-БДДГЭ})$, мл
Т-ПЭИ _а -Б (Т-1.0×ПЭИ _а -1.0×Б)	2.00	2.00	2.0
Т-ПЭИ _а -0.1×Б	2.00	2.00	0.2
Т-ПЭИ _а -0.3×Б			0.6
Т-ПЭИ _а -0.5×Б			1.0
Т-ПЭИ _а -0.7×Б			1.4
Т-ПЭИ _а -1.5×Б			3.0
Т-0.1×ПЭИ _а -Б	1.50	0.15	1.5
Т-0.5×ПЭИ _а -Б		0.75	
Т-1.5×ПЭИ _а -Б		2.25	

использовали раствор следующего состава: 10 мл 0.1 М раствора KCl, 8 мл этанола и 2 мл 1,4-диоксана.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Используя различные массовые отношения матрицы, полимера и сшивающего агента синтезировали неподвижные фазы на основе диоксида титана (Т). Хроматографические характеристики сорбентов изучали с помощью теста Танака для гидрофильных неподвижных фаз [24, 25] и на примере разделения модельной смеси водорастворимых витаминов группы В в режиме гидрофильной хроматографии.

Для анализа возможности применения сорбентов на основе диоксида титана в режиме гидрофильной хроматографии следует предварительно оценить перспективы адсорбционного модифицирования материала с точки зрения селективности и эффективности, а также определить стабильность функционального слоя полученного сорбента. Так как в режиме ГИХ доля органического растворителя в подвижной фазе достаточно высокая, адсорбционно закрепленный функциональный слой может быть неустойчив, а количество сшивающего реагента – недостаточным, что приведет к нестабильности получаемых хроматографических параметров, а также загрязнению системы. Поскольку в режиме ГИХ удерживание анализов происходит в адсорбированном слое воды на поверхности сорбента, в этом случае можно использовать и несферические частицы без существенного снижения хроматографических характеристик [26]. В связи с этим в качестве материала для предварительных испытаний по адсорбционному модифицированию диоксида титана использовали коммерчески более доступные частицы TiO_2 с полиморфной модификацией рутил.

Предварительно получили хроматографические характеристики немодифицированного материала с использованием смеси водорастворимых витаминов группы В в качестве модельных анализов, обладающих различными физико-химическими свойствами и различающихся по гидрофильности. Информация о хроматографических условиях разделения водорастворимых витаминов в условиях ГИХ на диоксиде титана в литературе отсутствует, поэтому при выборе состава подвижной фазы варьировали pH буферного раствора в диапазоне 4–9, его концентрацию (1–100 мМ) и содержание в элюенте. Лучшие хроматографические параметры обеспечил элюент следующего состава: 20 мМ ацетатно-аммонийный буферный раствор с pH 5.8– CH_3CN (10 : 90, по объему).

На рис. 2 представлены хроматограммы смеси витаминов на матрице и модифицированном сорбенте. Факторы удерживания витаминов и селективность после модифицирования увеличились благодаря созданию гидрофильного слоя и возможному экранированию лигандообменных сайтов матрицы диоксида титана, что позволило разделить смесь пяти водорастворимых витаминов за 20 мин в градиентном режиме элюирования. Таким образом, модифицирование диоксида титана позволяет регулировать селективность по полярным веществам в режиме ГИХ. Полученный сорбент стабилен в течение ~200 ч. Можно заключить, что адсорбционное закрепление функционального слоя с последующей сшивкой представляет перспективный подход для создания новых сорбентов для гидрофильной хроматографии.

Создание новых сорбентов на основе анатаза. Далее для получения новых сорбентов, отвечающих требованиям ВЭЖХ, использовали сферические частицы диоксида титана с более гидрофильной полиморфной модификацией анатаз, заявленные производителем как сорбент для ВЭЖХ. Из принципа Неймана следует, что различные по-

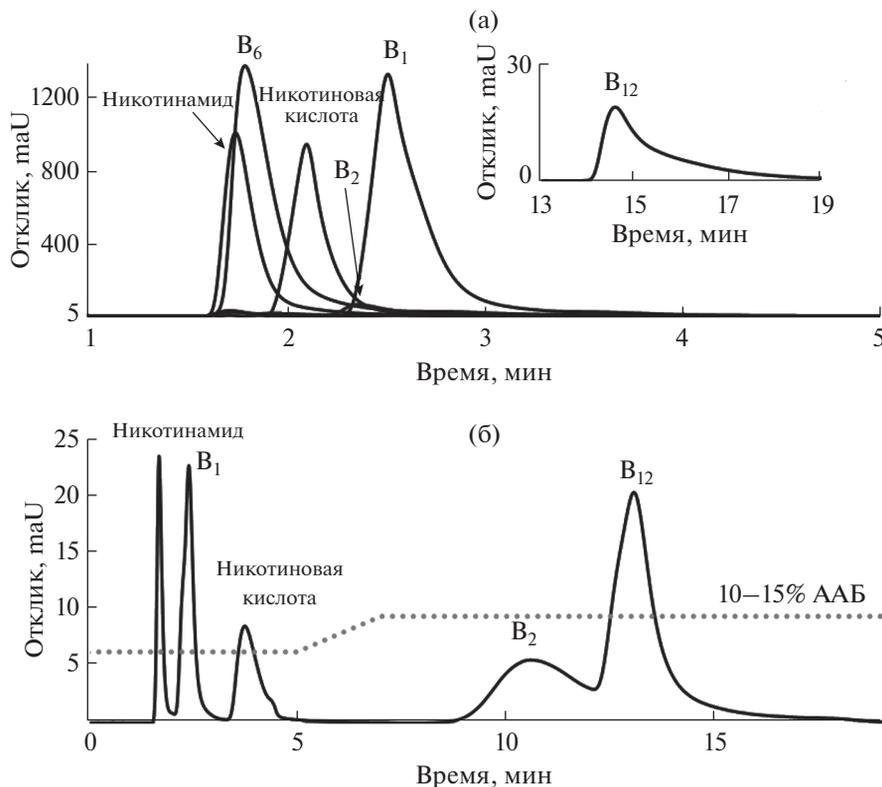


Рис. 2. (а) – Хроматограммы водорастворимых витаминов на сорбенте Т (рутил). (б) – Хроматограмма модельной смеси витаминов на сорбенте Т-ПЭИ_а-Б (рутил). Подвижная фаза: ацетонитрил–20 мМ аммонийно-ацетатный буферный раствор (ААБ) с рН 5.8 (90 : 10, по объему); скорость потока 0.3 мл/мин; УФ-детектирование при 270 нм.

лиморфные модификации диоксида титана могут обладать разными хроматографическими свойствами, поэтому необходимо предварительно оценить возможности анатаза в роли сорбента в режиме ГИХ.

При выборе оптимальных условий разделения витаминов группы В варьировали рН буферного раствора в диапазоне 3.0–11.0 с использованием подходящих буферных систем (формиатной, ацетатной, фосфатной, карбонатной), концентрацию буферного раствора и долю водной фазы в составе элюента. В кислой среде факторы удерживания никотиновой кислоты и рибофлавина на положительно заряженной неподвижной фазе слишком высоки ($k = 23.11$ и 60.02 соответственно), а при рН 9.0–11.0 – малы для всех витаминов. При этом тиамин не удерживается при рН 11.0, что согласуется с данными работ [19, 27]. Выбор рН водного буферного раствора осуществляли в области рН 7.0–9.0 (рис. 3). Значимого различия во временах удерживания и эффективности для витаминов при рН 7.0 и 8.0 не наблюдали, однако при рН 8.0 обеспечивается разрешение пары никотинамид/никотиновая кислота.

В результате варьирования концентрации буферного раствора и доли водной фазы для экспрессного разделения модельной смеси витами-

нов выбрали элюент состава 7 мМ фосфатный буферный раствор с рН 8.0–ацетонитрил (18 : 82, по объему). Хроматограмма смеси четырех витаминов (никотинамид, B_6 , B_2 , B_1) в изократическом режиме элюирования представлена на рис. 3. На колонке с анатазом (сорбент Т) обеспечиваются большие факторы удерживания аналитов, что может быть связано в том числе с различной структурной анизотропией адсорбированного на поверхности диоксида титана слоя воды, имеющего большую толщину в случае анатаза по сравнению с рутилом [28], что в ГИХ равнозначно увеличению объема неподвижной фазы.

Таким образом, выбранные условия элюирования позволили добиться приемлемого удерживания аналитов и более высокой селективности и эффективности для витаминов – до 30000 тт/м. В результате смесь четырех витаминов (B_3 амид, B_6 , B_2 , B_1) удалось разделить за 5 мин без использования градиентного режима элюирования. На колонке с сорбентом Т витамины элюируются в порядке увеличения гидрофильности, что может свидетельствовать о значительном вкладе распределительного механизма в их удерживание в адсорбированном слое воды у поверхности диоксида титана.

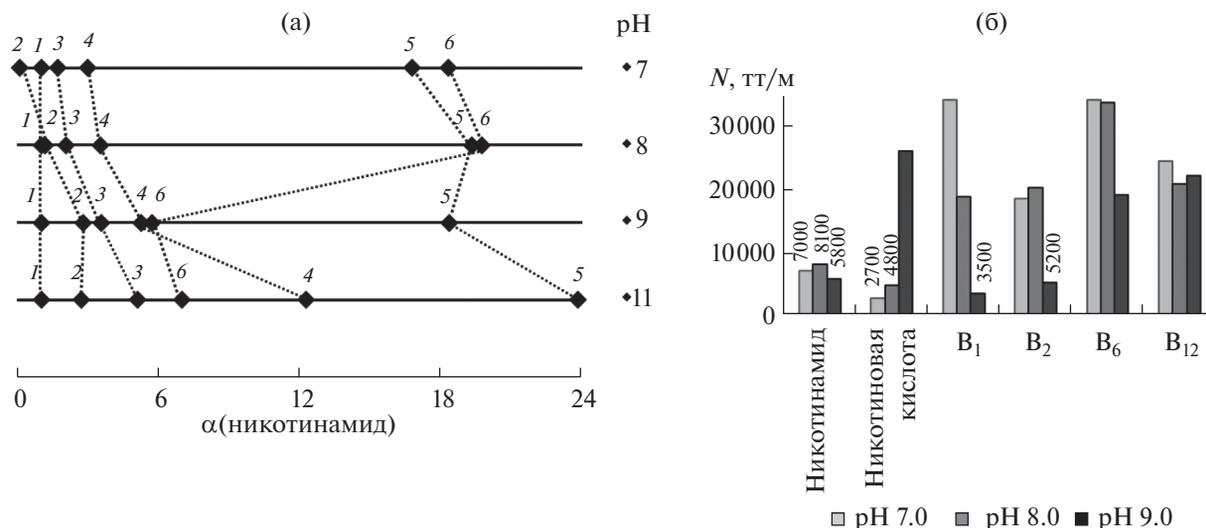


Рис. 3. Диаграммы зависимости факторов удерживания и эффективности по витаминам от pH буферного раствора на сорбенте Т (анатаз): 1 – никотинамид, 2 – никотиновая кислота, 3 – V_6 , 4 – V_2 , 5 – V_{12} , 6 – V_1 ; подвижная фаза: ацетонитрил–буферный раствор (80 : 20, по объему); скорость потока 1.0 мл/мин; УФ-детектирование при 270 нм.

Хроматографические свойства сорбентов Т-б × ПЭИ_а-а × Б. Выше показано, что адсорбционное закрепление полимерного слоя на поверхности диоксида титана позволяет улучшить селективность и эффективность нового гидрофильного сорбента. Далее варьировали количество ПЭИ и 1,4-БДДГЭ по отношению к матрице при синтезе сорбентов с целью возможного улучшения хроматографических характеристик модифицированной таким образом неподвижной фазы. Разделение витаминов осуществляли в выбранных ранее условиях (рис. 3).

Выбор количества сшивающего агента 1,4-БДДГЭ. 1,4-БДДГЭ представляет собой молекулу, содержащую полярные эпоксидные группы, раскрывающиеся при взаимодействии с ПЭИ, и гидрофобные бутильные фрагменты. Варьируя количество 1,4-БДДГЭ, участвующего в реакции модифицирования сорбента, можно повлиять на поверхностные свойства неподвижной фазы и ее общую гидрофильность, а также установить необходимое и достаточное количество реагента для инкапсулирования адсорбированного ПЭИ с целью его надежного закрепления на матрице. Получили ряд сорбентов с массовыми соотношениями диоксид титана–1,4-БДДГЭ, равными 1 : 0.1, 1 : 0.3, 1 : 0.5, 1 : 0.7, 1 : 1.0 и 1 : 1.5. В этой серии сорбентов соотношение матрица–адсорбционно закрепленный ПЭИ составляло 1 : 1 по массе.

Из приведенных на рис. 4 хроматограмм модельных смесей витаминов видно, что по сравнению с матрицей Т селективность разделения витаминов на колонках с модифицированными сорбентами увеличилась, что обеспечило полное разрешение пары V_1/V_{12} , невозможное на

колонке Т. Наибольшая селективность по витаминам характерна для колонок с сорбентами Т-ПЭИ_а-1.0 × Б и Т-ПЭИ_а-0.1 × Б, наибольшая эффективность – для сорбентов Т-ПЭИ_а-1.0 × Б и Т-ПЭИ_а-0.5 × Б. Однако в случае Т-ПЭИ_а-0.1 × Б количество сшивающего реагента оказалось недостаточным для закрепления находящегося на поверхности диоксида титана слоя ПЭИ, и в процессе работы с подвижной фазой, обогащенной ацетонитрилом, плохо закрепленный адсорбционный слой ПЭИ, по-видимому, десорбировался, а эффективность колонки существенно снизилась после 11 ч эксплуатации.

Среди ряда изученных в работе неподвижных фаз сорбент Т-ПЭИ_а-Б (с массовым соотношением реагентов TiO_2 –ПЭИ–1,4-БДДГЭ 1 : 1 : 1) продемонстрировал лучшую селективность и позволил разделить модельную смесь шести водорастворимых витаминов (никотинамид, никотиновая кислота, V_6 , V_2 , V_1 , V_{12}) за 4 мин с эффективностью до 25000 тТ/м при выбранных условиях изократического режима элюирования (рис. 4). При этом выбранное в качестве оптимального значение pH 8.0 превышает изоэлектрическую точку диоксида титана, и таким образом обеспечивается электростатическое закрепление положительно заряженного сшитого слоя ПЭИ на отрицательно заряженной поверхности матрицы.

Выбор толщины полимерного слоя полиэтиленimina. Варьирование количества ПЭИ на стадии модифицирования приводит к изменению толщины адсорбированного на матрице полимерного слоя ПЭИ. Толщина функционального слоя сорбента влияет на скорость массопереноса и установления равновесия между подвижной и не-

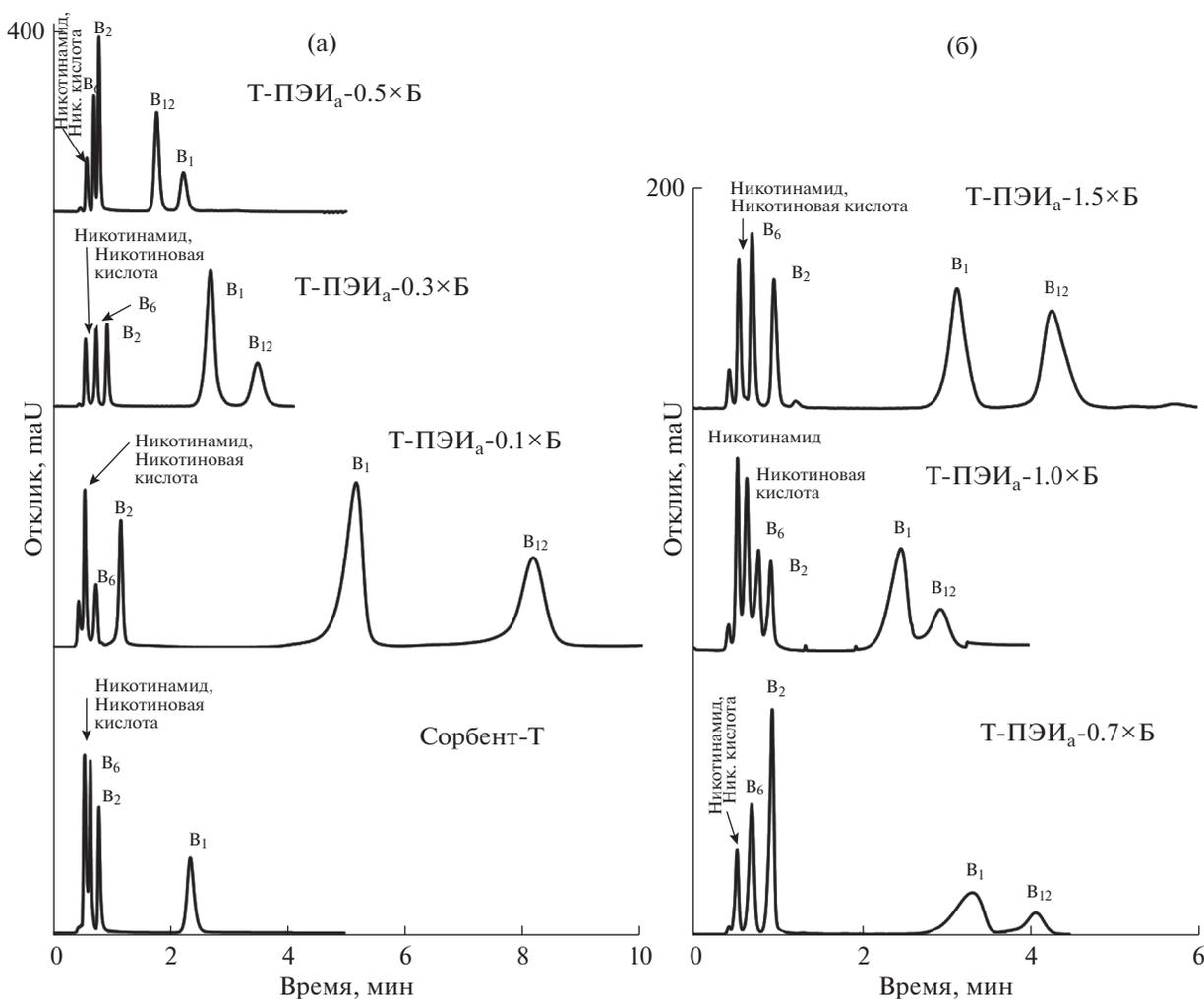


Рис. 4. Хроматограммы модельной смеси витаминов на сорбентах с различным количеством 1,4-БДДГЭ. Подвижная фаза: 7 мМ фосфатный буферный раствор с рН 8.0–ацетонитрил (15 : 85, по объему), скорость потока 1 мл/мин, УФ-детектирование при 270 нм.

подвижной фазой и аналитами, поэтому таким образом можно влиять на эффективность. В работе получен ряд сорбентов $T-b \times \text{ПЭИ}_a\text{-Б}$, где $b = 0.1, 0.5, 1.0$ и 1.5 .

Результаты определения витаминов приведены на рис. 5. Наибольшую селективность и эффективность по витаминам наблюдали для колонок с $T-1.0 \times \text{ПЭИ}_a\text{-Б}$ и $T-0.1 \times \text{ПЭИ}_a\text{-Б}$ (до 24000 тт/м). Снижение эффективности сорбента $T-1.5 \times \text{ПЭИ}_a\text{-Б}$, по-видимому, связано с большей толщиной функционального слоя ПЭИ на поверхности диоксида титана, что приводит к замедлению массопереноса. В процессе работы на колонке $T-0.1 \times \text{ПЭИ}_a\text{-Б}$ наблюдали снижение эффективности и рост давления в хроматографической системе. Вероятно, 10 мас. % ПЭИ недостаточно для покрытия частиц и полного экранирования матрицы Т. На рис. 5в, 5г приведены хроматограммы модельных смесей водорастворимых

витаминов на сорбентах $T-1.0 \times \text{ПЭИ}_a\text{-Б}$ и $T-1.5 \times \text{ПЭИ}_a\text{-Б}$. Благодаря большей селективности на сорбенте $T-1.0 \times \text{ПЭИ}_a\text{-Б}$ удалось разделить смесь из шести водорастворимых витаминов за 4 мин в изократическом режиме элюирования.

В результате варьирования количества адсорбционно закрепленного на поверхности диоксида титана ПЭИ и сшивающего реагента 1,4-БДДГЭ установили, что сорбент $T-1.0 \times \text{ПЭИ}_a\text{-1.0} \times \text{Б}$ обладает лучшими хроматографическими характеристиками, высокой эффективностью и большей селективностью при разделении водорастворимых витаминов.

Сравнение сорбентов на основе TiO_2 и SiO_2 в режиме гидрофильной хроматографии. Одним из главных преимуществ неподвижных фаз на основе диоксида титана является возможность обеспечить альтернативную силикагелю селективность разделения полярных аналитов благодаря

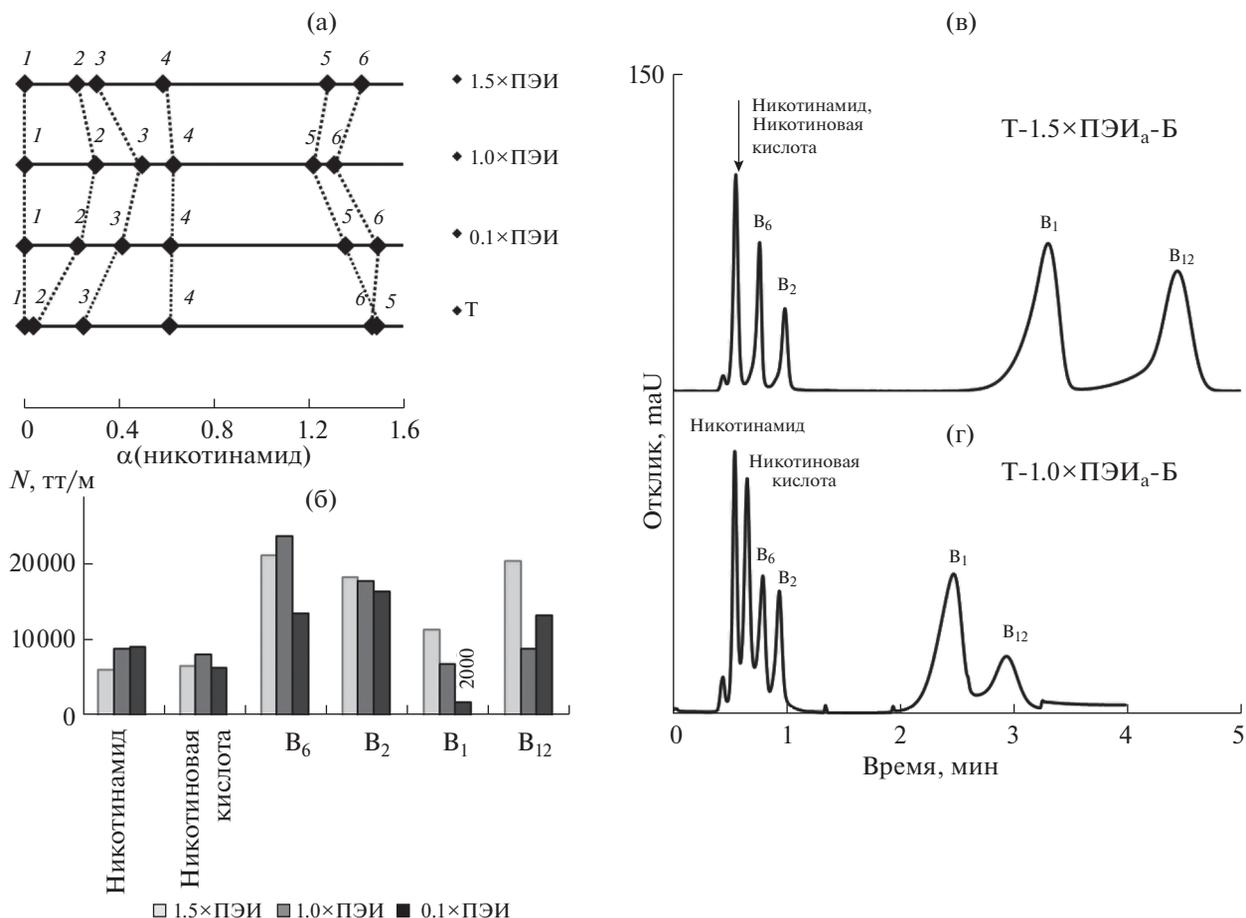


Рис. 5. (а) – Шкала селективности витаминов относительно B_3 амида, (б) – диаграмма эффективности по витаминам на сорбентах с различным количеством полиэтиленимина, (в) и (г) – хроматограммы модельной смеси витаминов на сорбентах с различным количеством полиэтиленимина: 1 – никотинамид, 2 – никотиновая кислота, 3 – B_6 , 4 – B_2 , 5 – B_1 , 6 – B_{12} . Подвижная фаза: 7 мМ фосфатный буферный раствор с рН 8.0–ацетонитрил (15 : 85, по объему), скорость потока 1 мл/мин, УФ-детектирование при 270 нм.

иной природе материала. Сравнили хроматографические параметры силикагеля (С) и модифицированного сорбента С-ПЭИ_а-Б с массовым соотношением реагентов 1 : 1 по аналогии с сорбентом Т-1.0×ПЭИ_а-1.0×Б с наилучшими характеристиками.

На рис. 6а, 6б представлены шкалы селективности по витаминам для сорбентов С, С-ПЭИ_а-Б, Т и Т-ПЭИ_а-Б. Для сорбента Т-ПЭИ_а-Б факторы удерживания витаминов увеличились по сравнению с матрицей Т, а для С-ПЭИ_а-Б – уменьшились по сравнению с матрицей С. В случае обоих модифицированных ПЭИ сорбентов наблюдали уменьшение факторов удерживания положительно заряженного тиамина (B_1) и их увеличение для никотиновой кислоты вследствие электростатического притяжения. Из представленных на рис. 6в, 6г диаграмм эффективности можно заключить, что сорбент Т-ПЭИ_а-Б уступает по эффективности своему аналогу на основе силикаге-

ля. Однако невысокая эффективность сорбентов на основе диоксида титана в данном случае может быть обусловлена неоптимальными условиями упаковки частиц, заметно отличающихся от силикагеля. В данном случае целесообразно сравнить селективности сорбентов на основе различных матриц до и после модифицирования. Эффективность новых сорбентов впоследствии может быть улучшена путем оптимизации условий их упаковки в хроматографические колонки.

Сравнение хроматографических характеристик полученных сорбентов с использованием теста Танака для гидрофильных неподвижных фаз. Для характеристики сорбентов до и после модифицирования, оценки различных типов селективности и вклада вторичных взаимодействий в удерживание определяемых веществ использовали тест Танака для гидрофильных неподвижных фаз [25] (табл. 2). Как видно из табл. 2, адсорбция и сшивка слоя ПЭИ на матрице С позволили увеличить гидрофильность, гидроксильную селективность,

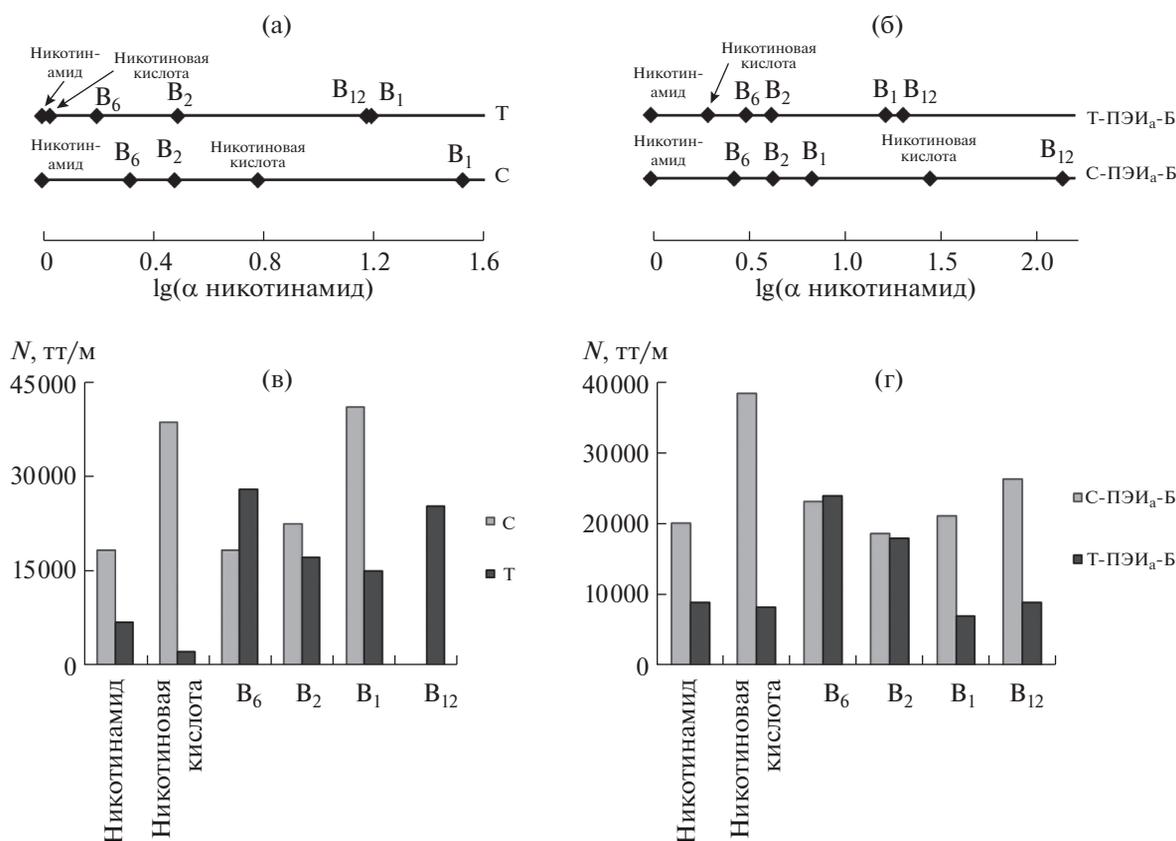


Рис. 6. (а) и (б) – Шкалы селективности витаминов относительно никотинамида, (в) и (г) – диаграммы эффективности по витамину. Подвижная фаза для сорбентов на основе SiO₂: 100 мМ аммонийно-ацетатный буферный раствор с рН 5.8–ацетонитрил (10 : 90, по объему); подвижная фаза для сорбентов на основе TiO₂: 7 мМ фосфатный буферный раствор с рН 8.0–ацетонитрил (15 : 85, по объему); общие условия: скорость потока 1 мл/мин, УФ-детектирование при 270 нм.

основность сорбента С-ПЭИ_а-Б и изменить селективность по отношению к заряженным соединениям с катионообменной α(СХ), обусловленной диссоциацией силанольных групп ($pK_a = 4.7$) в условиях теста, на анионообменную α(АХ), связанную с наличием положительно заряженных аммониевых групп на поверхности сорбента в результате выбранного способа модифицирования. Таким образом, данный функциональный слой эффективно экранирует матрицу, и возможности

катионообменного взаимодействия полностью нивелируются.

Аналогично сорбентам на основе силикагеля в случае модифицирования диоксида титана для Т-ПЭИ_а-Б возросла анионообменная селективность, а также уменьшились значения α(Тб/Тр), что свидетельствует об уменьшении кислотных свойств модифицированного сорбента по сравнению с матрицей в результате адсорбции и сшивки ПЭИ. Увеличение метиленовой се-

Таблица 2. Результаты теста Танака для гидрофильных неподвижных фаз

Сорбент	kU	$\alpha(OH)$	$\alpha(CH_2)$	$\alpha(AX)$	$\alpha(CX)$	$\alpha(Tb/Tr)$	$\alpha(V/A)$
С	0.77	1.09	1.23	0.11	44.57	1.22	1.17
С-ПЭИ _а -Б	0.75	1.59	1.23	30.01	0.01	0.54	1.39
Т	3.06	1.01	1.27	0.33	0.71	3.13	5.13
Т-ПЭИ _а -Б	2.09	0.75	2.69	2.41	0.26	0.54	3.44

Условия: подвижная фаза: ацетонитрил–20 мМ аммонийно-ацетатный буферный раствор с рН 4.7 (90 : 10, по объему); скорость потока 0.5 мл/мин; УФ-детектирование при 254 нм.

лективности $\alpha(\text{CH}_2)$, а также уменьшение гидрофильности поверхности kU и гидроксильной селективности $\alpha(\text{OH})$, вероятно, вызвано введением гидрофобных бутильных фрагментов сшивающего реагента 1,4-БДДГЭ в структуру функционального слоя, а также экранированием лигандообменных сайтов матрицы Т сшитым слоем ПЭИ. Гидрофильность Т-ПЭИ_а-Б согласно kU почти в три раза выше, чем у прототипа на основе силикагеля, однако при этом стоит учитывать возможность лигандообменных взаимодействий диоксида титана с аналитами теста Танака, что может вносить вклад в соответствующий тип селективности и величины факторов удерживания аналитов.

Сорбент на основе силикагеля обладает большими гидроксильной $\alpha(\text{OH})$ и анионообменной $\alpha(\text{AX})$ селективностью, при этом метиленовая $\alpha(\text{CH}_2)$ и селективность по отношению к стереоизомерам $\alpha(\text{V/A})$ более ярко выражены у Т-ПЭИ_а-Б. Высокая стереоселективность $\alpha(\text{V/A})$, характерная для матрицы Т, лишь немного снижается в результате модифицирования. Таким образом, сорбенты на основе диоксида титана могут представлять интерес в области разделения стереоизомеров.

* * *

Впервые показано применение модифицированных частиц диоксида титана в режиме ГИХ. Установлено, что адсорбционное закрепленное ПЭИ с последующей сшивкой 1,4-БДДГЭ приводит к получению стабильных сорбентов при соотношении матрица—ПЭИ не менее 1 : 0.5 и матрица—1,4-БДДГЭ не менее 1 : 0.3. По результатам поиска условий модифицирования выявлены способы управления селективностью и эффективностью путем варьирования количества сшивающего агента 1,4-БДДГЭ и ПЭИ, а также подобраны условия определения водорастворимых витаминов на новых сорбентах. В результате получен сорбент Т-1.0 × ПЭИ_а-1.0 × Б, позволяющий экспрессно разделить модельную смесь шести витаминов менее чем за 4 мин с эффективностью до 25000 тг/м. Показано, что сорбенты на основе диоксида титана, полученные путем адсорбционного закрепления ПЭИ с последующей сшивкой 1,4-БДДГЭ, стабильны в течение нескольких месяцев эксплуатации и в широком диапазоне рН, проявляют иную селективность по отношению к витаминам по сравнению с аналогом на основе силикагеля, обеспечивают существенно более экспрессное разделение модельной смеси витаминов и являются потенциально эффективными сорбентами для гидрофильного режима. Отсутствие необходимости градиентного элюирования позволяет избежать процедуры

уравновешивания колонки между анализами, которая часто занимает много времени в режиме ГИХ. Выбор условий модифицирования диоксида титана обеспечил получение стабильных сорбентов благодаря надежному закреплению функционального слоя в условиях эксплуатации с водно-органическими подвижными фазами, что в сочетании с гидролитической устойчивостью диоксида титана открывает новые перспективы использования метода ГИХ, а также может найти применение для создания сорбентов для твердофазной экстракции полярных веществ. Дальнейшие исследования будут направлены на улучшение эффективности путем повышения степени однородности покрытия, на поиск способов ковалентного модифицирования поверхности диоксида титана, а также оптимизации процесса упаковки.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 20-03-00909.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Alpert A.J.* Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds // *J. Chromatogr. A.* 1990. V. 499. P. 177.
2. *Huber J.F.K., Pawlowska M., Markl P.* Selection of the solid support – A crucial step for the realization of solvent generated liquid-liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 1990. V. 500. P. 257.
3. *Чернобровкина А.В., Смоленков А.Д., Шнигун О.А.* Гидрофильная хроматография – перспективный метод определения полярных веществ // *Лаборатория и производство.* 2018. № 4. С. 76.
4. *Bather J.M., Gray R.A.* Relationship between chromatographic performance and surface structure of alumina microspheres // *J. Chromatogr. A.* 1978. V. 156. P. 21.
5. *Jaffrezic-Renault N., Poirier-Andrade H., Trang D.H.* Models for the adsorption of uranium on titanium dioxide // *J. Chromatogr. A.* 1980. V. 201. P. 187.
6. *Kawahara C., Kozbur X., Gould S., Parker L.* Magnesium oxide column chromatography: A novel and rapid method for steroid purification // *Anal. Biochem.* 1980. V. 102. P. 310.
7. *Kawahara M., Nakamura H., Nakajima T.* Titania and zirconia: possible new ceramic microparticulates for high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr.* 1990. V. 515. P. 149.
8. *Grfin M., Kurganov A.A., Schacht S., Schüth F., Unger K.K.* Comparison of an ordered mesoporous aluminosilicate, silica, alumina, titania and zirconia in normal-phase high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 1996. V. 740. P. 1.
9. *Tani K., Suzuki Y.* Investigation of the ion-exchange behaviour of titania: Application as a packing material for ion chromatography // *Chromatographia.* 1997. V. 46. P. 623.

10. *Tani K., Kubojima H.* Separation of inorganic anions and cations on titania by use of acetic acid-sodium acetate and bicine-sodium hydroxide buffers // *Chromatographia*. 1998. V. 47. P. 655.
11. *Tani K., Ozawa M.* Investigation of chromatographic properties of titania. I. On retention behavior of hydroxyl and other substituent aliphatic carboxylic acids: Comparison with zirconia // *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.* 1999. V.22. P. 843.
12. *Tani K., Sumizawa T., Watanabe M., Tachibana M., Koizumi H., Kiba T.* Evaluation of titania as an ion-exchanger and as a ligand-exchanger in HPLC // *Chromatographia*. 2002. V. 55. P. 33.
13. *Pinkse M.W., Uitto P.M., Hilhorst M.J., Ooms B., Heck A.J.* Selective isolation at the femtomole level of phosphopeptides from proteolytic digests using 2D-NanoLC-ESI-MS/MS and titanium oxide precolumns // *Anal. Chem.* 2004. V. 76. P. 3935.
14. *Ting Z., Lucy C.A.* Hydrophilic interaction chromatography of nucleotides and their pathway intermediates on titania // *J. Chromatogr. A*. 2008. V.1187. P. 87.
15. *Ting Z., Lucy C.A.* Separation of carboxylates by hydrophilic interaction liquid chromatography on titania // *J. Chromatogr. A*. 2010. V. 1217. P. 82.
16. *Ozawa M., Tani K., Nomura A., Tachibana M., Koizumi H., Kiba N.* Retention behavior of nucleic acid bases and purine derivatives on titania // *Chromatographia*. 2009. V. 70. P. 533.
17. *Ozawa M., Tani K., Tachibana M., Koizumi H., Kiba N.* Retention behavior of purine-like compounds on titania and the effect of organic modifiers content in the mobile phase // *Chromatographia*. 2010. V. 72. P. 313.
18. *Moliner-Martinez Y., Herrerez-Hernandez R., Molins-Legua C., Campins-Falco P.* Improving analysis of apolar organic compounds by the use of a capillary titania-based column: Application to the direct determination of faecal sterols cholesterol and coprostanol in wastewater samples // *J. Chromatogr. A*. 2010. V. 1217. P. 4682.
19. *Tan J., Li R., Jiang Z.T.* Determination of thiamine (vitamin B1) in pharmaceutical tablets and human urine by titania-based ligand-exchange hydrophilic interaction chromatography // *Anal. Methods*. 2011. V. 3. P. 1568.
20. *Abi J.M., Randon J.* Chromatographic behavior of xanthines in aqueous normal phase chromatography using titania stationary phase // *J. Chromatogr. A*. 2011. V. 1218. P. 721.
21. *Chicz R.M., Shi Z., Regnier F.E.* Preparation and evaluation of inorganic anion-exchange sorbents not based on silica // *J. Chromatogr.* 1986. V. 359. P. 121.
22. *Alpert A.J., Regnier F.E.* Preparation of a porous microparticulate anion-exchange chromatography support for proteins // *J. Chromatogr. A*. 1979. V. 185. P.375.
23. *Segro S.S., Cabezas Y., Malik A.* Ultra-high-stability, pH-resistant sol-gel titania poly (tetrahydrofuran) coating for capillary microextraction on-line coupled to high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2009. V. 1216. P. 4329.
24. *Kawachi Y., Ikegami T., Takubo H., Ikegami Y., Miyamoto M., Tanaka N.* Chromatographic characterization of hydrophilic interaction liquid chromatography stationary phases: Hydrophilicity, charge effects, structural selectivity, and separation efficiency // *J. Chromatogr. A*. 2011. V. 1218. P. 5903.
25. *Dolci M.* Chromatographic Characterization of Stationary Phases for Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography. Runcorn, Cheshire, UK: Thermo Fisher Scientific, 2013.
26. *Buszewski B., Noga S.* Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) – A powerful separation technique // *Anal. Bioanal. Chem.* 2012. V. 402. P. 231.
27. *Kip C., Tosun R.B., Alpaslan S., Koçer I., Çelik E., Tuncel A.* Ni(II)-decorated porous titania microspheres as a stationary phase for column chromatography applications: Highly selective purification of hemoglobin from human blood // *Talanta*. 2019. V. 200. P. 100.
28. *Kavathekar R.S., English N.J., MacElroy J.M.D.* Spatial distribution of adsorbed water layers at the TiO₂ rutile and anatase interfaces // *Chem. Phys. Lett.* 2012. V. 554. P. 102.

УДК 543.544.5.068.7

ОДНОВРЕМЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИДРАЗИНА, МЕТИЛГИДРАЗИНА И 1,1-ДИМЕТИЛГИДРАЗИНА В ВОДАХ МЕТОДОМ ВЭЖХ СО СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ С ПРИМЕНЕНИЕМ КАТАЛИЗА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ

© 2021 г. Ю. В. Тимченко^а, *, А. В. Апенкина^а, А. Д. Смоленков^а, А. В. Пирогов^а, О. А. Шпигун^а

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

*e-mail: yury_tim@mail.ru

Поступила в редакцию 11.04.2021 г.

После доработки 23.04.2021 г.

Принята к публикации 26.04.2021 г.

Разработан простой, быстрый и чувствительный способ одновременного определения гидразина, метилгидразина и 1,1-диметилгидразина в водах, основанный на предколонной дериватизации бензальдегидом и определении образующихся продуктов методом обращенно-фазовой ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием при 300, 282 и 298 нм соответственно. Впервые применен эффект иминного и мицеллярного катализа для получения производных гидразинов при совместном присутствии. Выбраны условия дериватизации: тип, pH и концентрация буферной системы; концентрации реагента и поверхностно-активного вещества; температура и продолжительность реакции. Установлено, что реакция дериватизации протекает полностью при pH 9.4 в присутствии каталитической системы на основе 0.6 М аммония и 87 мМ додецилсульфата натрия, а также 3.5 мМ реагента при комнатной температуре за 5 мин. Количественный выход продуктов дериватизации подтвержден методом ионной хроматографии. Пределы обнаружения (S/N = 3) без дополнительного концентрирования составили 0.3, 2.3 и 1.3 мкг/л, а линейный диапазон 1–500, 7–1000 и 5–1000 мкг/л для гидразина, метилгидразина и 1,1-диметилгидразина соответственно.

Ключевые слова: предколонная дериватизация, гидразины, мицеллярный катализ, ВЭЖХ, бензальдегид, анализ воды.

DOI: 10.31857/S004445022110011X

Гидразин (Ги) и его метильные гомологи – метилгидразин (МГ) и несимметричный диметилгидразин (НДМГ) – являются продуктами многотоннажного производства и находят широкое применение в органическом синтезе, производстве лекарственных препаратов, регуляторов роста растений, а также в качестве компонентов ракетного топлива [1, 2]. При этом эти соединения обладают генотоксичной и мутагенной активностью по отношению к живым организмам [3, 4]. Американское агентство по защите окружающей среды и Европейское химическое агентство относят Ги, МГ и НДМГ к категории возможно канцерогенных для людей [5]. В России они относятся к веществам первого класса опасности и канцерогенам, вследствие чего их содержание в химической продукции и природных объектах строго контролируется. Так, для Ги в объектах хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования установлена ПДК 0.01 мг/л [6]. В связи с выявлением новых негативных эффек-

тов долговременного воздействия гидразина и его производных на здоровье человека и живую природу, а также повышением требований к качеству жизни необходимо создание новых экспрессных и высокочувствительных подходов к определению Ги и его метилпроизводных.

Хроматографические методы, благодаря высокой селективности и чувствительности, хорошо зарекомендовали себя при определении следовых количеств гидразинов в объектах со сложной матрицей [7]. Прямое определение осложнено из-за их высокой полярности, термолабильности, склонности к окислению, отсутствия хромофорных групп и низкой молекулярной массы. Описано определение низких концентраций гидразинов в нативной форме [8, 9] с использованием вариантов ионной (ИХ) [10, 11], ион-парной [12, 13] и гидрофильной хроматографии (ГФ) [14] с амперометрическим детектированием (АД). Недостатками АД по сравнению с другими детекторами, применяемыми в жидкостной хроматографии,

являются более низкая стабильность аналитического сигнала, а также перегрузка хроматограмм электроактивными примесями, присутствующими в сложных матрицах.

Альтернативным и наиболее популярным подходом к определению малых концентраций гидразинов является проведение предварительной дериватизации. Благодаря большому выбору реагентов дериватизацию широко используют в анализе для повышения устойчивости аналитов, а также улучшения характеристик разделения и детектирования [15].

Известны подходы к газохроматографическому определению гидразинов с использованием электрозахватного [16], азотно-фосфорного [17, 18], пламенно-ионизационного (ПИД) [19, 20] и масс-спектрометрического детекторов (МС) [21, 22]. Обязательная стадия замены растворителя в газовой хроматографии (ГХ) — очевидный и существенный недостаток данного метода, при этом продукты реакции выделяют и концентрируют из реакционной смеси. В случае обращенно-фазовой ВЭЖХ (ОФ ВЭЖХ) анализ возможен сразу после дериватизации без дополнительных трудоемких стадий. Предложены подходы к определению гидразина и его производных, основанные на применении метода ОФ ВЭЖХ со спектрофотометрическим (СФД) [23–28] и флуоресцентным детектированием [29, 30], МС [31] и тандемной МС [32, 33].

В качестве дериватирующих реагентов используют галогенангидриды ароматических кислот, производные арилгалогенидов или карбонильные соединения: пентафторбензоилхлорид [16], бензоилхлорид [32], 4-хлор-5,7-динитробензофуразан [23] ацетон [17], глиоксаль [25], 2,3-нафталиальдегид [29], фурфурол [19, 22], 5-нитро-2-фуральдегид [24], бензальдегид [20, 22, 27, 28, 31] и его производные [18, 21, 22, 26, 30, 32]. Использование карбонильных соединений предпочтительно ввиду их более высокой селективности по отношению к гидразинам и устойчивости образующихся гидразонов.

Отметим, что пределы обнаружения (c_{\min}) во всех указанных выше работах достигают значений порядка долей или нескольких мкг/л (мкг/кг) и выше, а подходов, позволяющих одновременно определять на этом уровне нескольких гидразинов с использованием группового реагента немного. Таких значений c_{\min} удается достичь в основном за счет использования дорогого оборудования и детекторов, а также различных вариантов концентрирования. Для сокращения продолжительности реакции и увеличения выхода продуктов дериватизации нередко используют нагревание до 75°C в течение до 1.5 ч. Однако постоянный нагрев способствует разложению гидразонов [34], а в присутствии ионов металлов и кислорода

интенсивно происходят окисление и трансформация гидразинов [35]. В целом этапу изучения и подбора условий реакций дериватизации уделяется недостаточное внимание, хотя от степени завершенности реакции напрямую зависят чувствительность и правильность результата определения. Количественный выход продуктов дериватизации особенно важен при определении следовых количеств аналитов.

Перспективный подход к сокращению продолжительности реакции — использование каталитического эффекта мицеллярных сред. Явление мицеллярного катализа (МК) широко используют в органическом синтезе для ускорения реакций конденсации, гидролиза, полимеризации и т.д. [36]. Так, каталитический эффект мицеллярных сред применили для определения гидразина в водных матрицах с предварительной дериватизацией 4-диметиламинобензальдегидом [37]. Авторы отмечают 100-кратное увеличение скорости реакции образования гидразона в присутствии додецилсульфата натрия (ДДСН). Другие подобные исследования реакций дериватизации в мицеллярных средах и их аналитического приложения для определения гидразинов на данный момент не проводились.

Цель данной работы — выбор условий реакций дериватизации Ги, МГ и НДМГ групповым реагентом бензальдегидом (БА), исследование возможности применения мицеллярного катализа для дериватизации гидразинов, а также разработка комбинированного подхода к их одновременному определению в питьевой воде методом ОФ ВЭЖХ–СФД.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты и материалы. Гидразина сульфат (>99%), МГ (>98%), НДМГ (>98%), безводный метиламин (>98%), три(гидроксиэтил)аминометан (Трис) (>99.9%), бензальдегид (>99%), безводный цитрат натрия (>99%), формиат натрия (>99%), триэтанолламин (98%), декагидрат тетрабората натрия (>99.5%) были приобретены у “Sigma-Aldrich” (Германия). Ацетонитрил для хроматографии (99.9%), серная кислота (95%), ледяная уксусная кислота (99.7%), гидроксид натрия (98%), ацетат аммония (98%), дигидрат дигидрофосфата натрия (>99%), безводный гидрофосфат натрия (99%), ортофосфорная кислота (85%), муравьиная кислота (98%), соляная кислота (37%), хлорид аммония (99.5%) и додецилсульфат натрия (>85%) производства “Panreac” (Испания). Для приготовления всех растворов использовали высокочистую воду с удельным сопротивлением 18.2 МОм·см, полученную с применением системы очистки воды Milli-Q (Millipore, США).

Приготовление растворов. Исходные растворы Ги, МГ и НДМГ с концентрацией 10 мг/л готовили растворением точной навески в 10 мМ серной кислоте. Растворы хранили при +4°C не более месяца и использовали для приготовления всех необходимых рабочих растворов с меньшими концентрациями разбавлением 10 мМ серной кислотой непосредственно в день проведения соответствующего этапа эксперимента. Растворы БА с концентрациями 5 и 20 г/л готовили растворением точных навесок в ацетонитриле и хранили при +4°C не более недели.

Для обеспечения необходимого pH реакционной среды использовали следующие буферные растворы: формиатный (4.0 М; pH 3.0), цитратный (1.5 М; pH 4.0, 5.0), фосфатный (2.0 М; pH 6.0, 7.0), на основе триэтанолamina (4.0 М; pH 8.0), тетраборатный (0.1 М; pH 9.0, 10.0), а также раствор серной кислоты (10 мМ; pH 2.0). Применяли также каталитические буферные растворы с концентрацией 4 М на основе аммония, метиламина и Трис в диапазоне pH 5.0–11.5. Перечисленные выше растворы готовили растворением точного количества соответствующих твердых солей или чистых веществ в деионизированной воде, значение pH регулировали добавлением растворов кислоты или основания, контролируя его pH-метром PB-11 (Sartorius, Германия).

Хроматографический анализ. Использовали ВЭЖХ-систему Agilent 1100, состоящую из двухканального градиентного насоса со смешением по высокому давлению, термостата колонок, дегазатора подвижной фазы, спектрофотометрического детектора на диодной матрице (ДАД) и охлаждаемого автоматического инжектора с дозирующим устройством для ввода пробы (Agilent Technologies, США). Для управления хроматографом и обработки данных применяли программное обеспечение ChemStation (Agilent Technologies, США). Для разделения компонентов использовали хроматографическую колонку (50 × 3.0 мм, диаметр зерна сорбента 1.8 мкм) ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD (Agilent Technologies, США), температура термостата колонки 30°C, скорость потока подвижной фазы – 0.4 мл/мин. Подвижной фазой являлась смесь 10 мМ аммонийно-ацетатного буферного раствора (pH 7) и ацетонитрила, содержание которого менялось по следующей градиентной программе, подобранной в предварительных экспериментах: 0–2 мин 25%, 2–7 мин линейный подъем до 80%, 7–9 мин 80%, 9–10 мин линейный спад до 25%, 10–12 мин 25%. Объем вводимой пробы составлял 100 мкл. Детектирование проводили при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения БА-производных гидразинов: 300, 282 и 298 нм для Ги, МГ и НДМГ соответственно.

Использовали ВЭЖХ-систему с амперометрическим детектором “Цвет-Яуза” (НПО “Химавтоматика”, Россия). Объем петли крана ввода пробы составлял 100 мкл. Анализ проводили по измененной методике [10] с использованием колонки (250 × 4.6 мм, диаметр зерна сорбента 10 мкм) Luna SCX (Phenomenex, США). В качестве подвижной фазы применяли 100 мМ аммонийно-ацетатный буферный раствор (pH 5.4) с добавкой 25 об. % ацетонитрила. Скорость потока подвижной фазы составляла 1.0 мл/мин. Потенциал амперометрического детектора +1.3 В.

Выбор условий реакции дериватизации. В рамках однофакторной оптимизации последовательно подбирали условия проведения реакции дериватизации, варьируя требуемый параметр при постоянных значениях других. Дериватизацию проводили непосредственно в хроматографических виалах из темного стекла.

Значение pH. К 1 мл растворов гидразинов с концентрациями по 1 мг/л добавляли 200 мкл соответствующего буферного раствора, 20 мкл раствора БА с концентрацией 5 г/л. Полученные смеси оставляли без доступа света при комнатной температуре (20 ± 2°C) и анализировали методом ВЭЖХ–СФД через 30 мин после добавления реагента.

Концентрация буферного раствора. К 1 мл растворов гидразинов с концентрациями по 1 мг/л добавляли 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500 мкл аммонийного буферного раствора с pH 9.4, 20 мкл раствора реагента с концентрацией 5 г/л. Полученные смеси оставляли без доступа света при комнатной температуре (20 ± 2°C) и анализировали методом ВЭЖХ–СФД через 5 мин после добавления реагента.

Концентрация реагента. К 1 мл растворов гидразинов с концентрациями по 1 мг/л добавляли 200 мкл аммонийного буферного раствора с pH 9.4 и 5, 10, 20, 50 мкл (5 г/л) или 25, 50 и 100 мкл (20 г/л) раствора БА. Полученные смеси оставляли без доступа света при комнатной температуре (20 ± 2°C) и анализировали методом ВЭЖХ–СФД через 10 мин.

Температура и продолжительность реакции. К 1 мл растворов гидразинов с концентрациями по 1 мг/л добавляли 200 мкл аммонийного буферного раствора с pH 9.4 и 25 мкл (20 г/л) раствора БА. Пробы выдерживали при комнатной температуре (20 ± 2°C) и 40, 60, 80°C в твердотельном термостате T-1 (Biosan, Латвия) и через 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 и 120 мин анализировали методом ВЭЖХ–СФД.

Концентрация поверхностно-активного вещества (ПАВ). К 1 мл растворов гидразинов с концентрациями по 1 мг/л добавляли 200 мкл аммонийного буферного раствора с pH 9.4 и навеску ДДСН (0.003, 0.0150, 0.030, 0.060 г). Смесь выдер-

живали в ультразвуковой (УЗ) ванне в течение 1 мин до полного растворения ДДСН, после чего добавляли 20 мкл (5 г/л) раствора БА. Реакцию проводили в течение 2 мин при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$), а затем анализировали методом ВЭЖХ–СФД.

Дериватизация в мицеллярной среде. К 1 мл растворов гидразинов с концентрациями по 1 мг/л добавляли 200 мкл аммонийного буферного раствора с рН 9.4 и 0.030 г ДДСН. Пробу выдерживали в УЗ-ванне в течение 1 мин, после чего вносили 25 мкл (20 г/л) раствора БА. Полученные смеси оставляли без доступа света при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) и анализировали методом ВЭЖХ–СФД через 2, 5, 10, 15, 30, 60, 90 и 120 мин после добавления реагента.

Процедура определения гидразинов в образцах вод. К 1 мл образца или градуировочного раствора

с заданными концентрациями гидразинов добавляли 200 мкл аммонийного буферного раствора с рН 9.4 и 0.030 г ДДСН. Каждую пробу выдерживали в УЗ-ванне в течение 1 мин, после чего вносили 25 мкл (20 г/л) раствора БА. Полученные смеси оставляли без доступа света при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) в течение 5 мин, после чего проводили анализ методом ВЭЖХ–СФД.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор условий определения гидразинов методом обращено-фазовой ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием. Благодаря наличию свободной аминогруппы, гидразины способны участвовать в реакции конденсации с ароматическими альдегидами с образованием соответствующих гидразонов (схема 1).

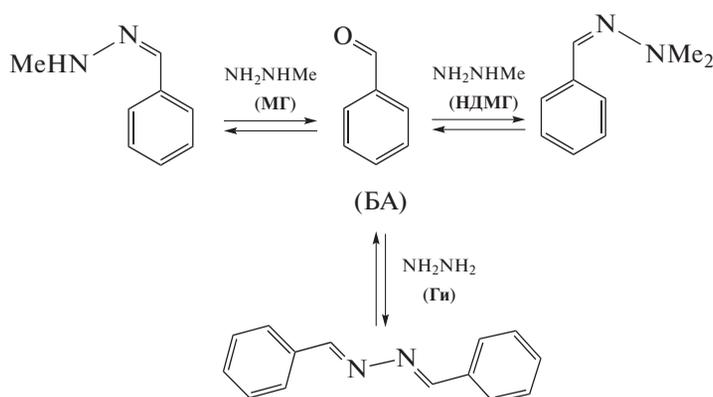


Схема 1. Реакции гидразина, метилгидразина и 1,1-диметилгидразина с бензальдегидом.

Данная реакция полностью обратима и катализируется как кислотами, так и основаниями, а в основе механизма лежит стадия нуклеофильной атаки свободной аминогруппой гидразинового атома углерода карбонильной группы с последующим отщеплением молекулы воды [34, 38]. Гидразин реагирует сразу по двум аминогруппам с образованием бензалазина. Образующиеся производные более гидрофобны, чем исходный БА за счет наличия дополнительного бензольного кольца в структуре бензалазина или метильных групп в случае гидразонов МГ и НДМГ. В результате удерживание в условиях ОФ ВЭЖХ БА-производных гидразинов увеличивается в ряду МГ < НДМГ < Ги. Образующиеся диметилгидразоны имеют в своей структуре атомы азота, которые могут участвовать в полярных взаимодействиях со свободными силанольными группами матрицы гидрофобизированных силикагелей, что приводит к ухудшению формы пика и, как следствие, к снижению c_{\min} . В связи с этим для разделения гидразонов выбрали колонку ZORBAX Eclipse Plus с привитыми октадецильными группами и

двойным эндкэппингом, а использование подвижной фазы с рН 7 исключает кислотный гидролиз БА-производных во время анализа [39].

С использованием ДАД получили электронные спектры поглощения гидразонов в диапазоне длин волн от 190 до 700 нм. Максимумы поглощения Ги, МГ и НДМГ производных составили 300, 282 и 298 нм соответственно. Данные длины волн выбрали для детектирования.

Значение рН. Реакция образования гидразонов – реакция конденсации, в которой принимают участие ионы водорода [38]. В связи с этим изучали влияние кислотности реакционной среды в широком диапазоне рН 2–10 на выход дериватов. Выход продукта дериватизации (ϕ) рассчитывали как отношение площади пика гидразона к максимальной площади пика, полученной в оптимальных условиях для данной концентрации аналита. Концентрация БА в реакционной смеси составляла примерно 0.9 мМ.

Как видно из рис. 1а, при использовании буферных систем без катализатора наибольшие вы-

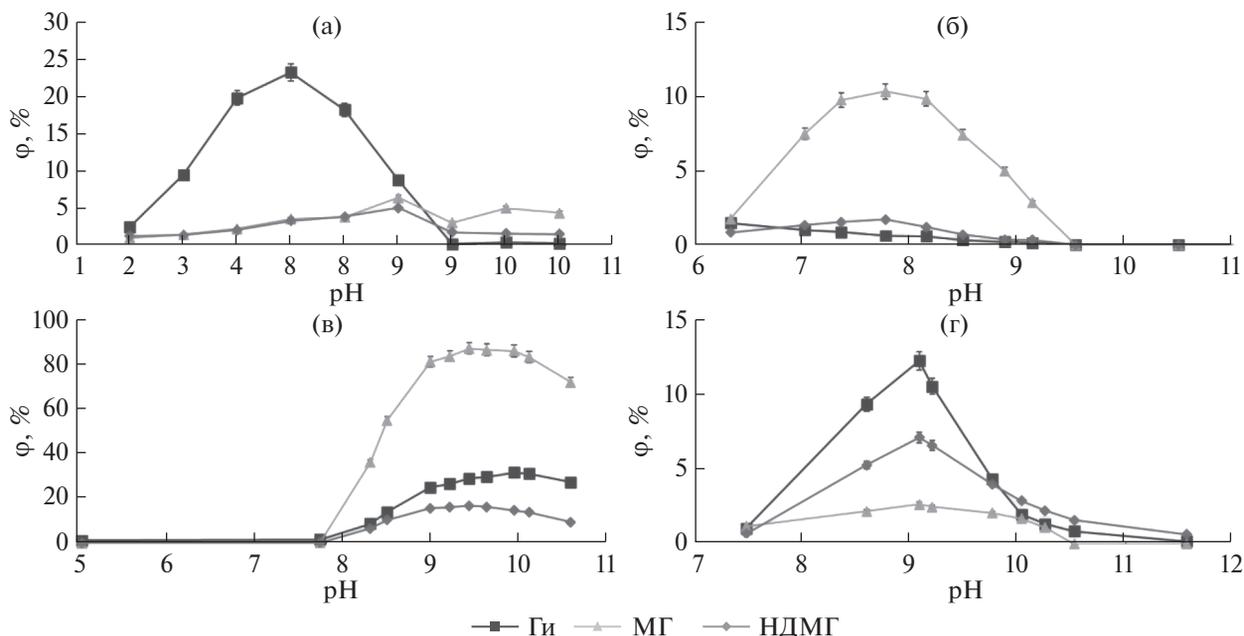


Рис. 1. Зависимости выхода гидразонов (ϕ) от pH реакционной среды с использованием буферных систем без иминного катализатора (а) и на основе Трис (б), аммония (в) и метиламина (г). Продолжительность реакции 5 мин (б), (в), (г) и 30 мин (а) ($n = 3$, $P = 0.95$).

ходы дериватов достигнуты в диапазоне pH 4–7 (слабокислая среда). Максимум для Ги соответствует pH 5, а для МГ и НДМГ смещен к pH 7. Однако даже при продолжительности реакции 30 мин эти выходы малы и для МГ и НДМГ составляют не больше 7%, что делает невозможным практическое применение БА как группового реагента для определения гидразинов.

Известно, что скорость образования гидразонов увеличивается в присутствии первичных аминов в результате иминного катализа [40]. Суть его заключается в образовании имина из амина и карбонильного соединения как промежуточного соединения, скорость реакции гидразинов с которым выше, чем с исходным карбонильным соединением. С целью уменьшения продолжительности реакции опробовали буферные системы на основе потенциальных иминных катализаторов, таких как аммиак (аммоний), метиламин и Трис. При проведении реакции в течение 5 мин при pH 5–7 без катализа выходы БА-производных для Ги, МГ и НДМГ составляют примерно 2.0, 0.6 и 0.4% соответственно. В то же время применение буферных систем на основе метиламина или аммония значительно ускоряет реакции образования БА-производных гидразинов (в 5–10 и 50–150 раз соответственно). Максимумы зависимостей выхода реакции соответствуют области pH 7–10 (слабощелочная среда). Присутствие Трис оказывает каталитический эффект только по отношению к МГ, что, вероятно, связано с меньшими стерическими затруднениями для нуклео-

фильной атаки МГ соответствующего имина. Для дальнейших исследований использовали аммонийный буферный раствор с pH 9.4, поскольку в этом случае реализуются наилучшие условия протекания реакции для всех гидразинов.

Концентрации буферного раствора и реагента.

Поскольку скорость образования гидразонов зависит от концентраций всех участвующих в этом процессе веществ, изучали зависимости выхода гидразонов от концентрации аммонийного буферного раствора в конечной реакционной смеси (рис. 2). При концентрации меньше 0.03 М эффект иминного катализа не наблюдается. Из представленных зависимостей видно, что при концентрации аммонийного буферного раствора больше 0.6 М выход всех БА-производных значительно не меняется, поэтому концентрацию 0.67 М выбрали для дальнейших исследований.

Ввиду обратимости реакции [34] для достижения высоких выходов необходим значительный избыток дериватирующего агента. Изучено влияние концентрации БА в диапазоне 0.2–14 мМ в реакционной смеси на выходы продуктов дериватизации гидразинов (табл. 1).

При концентрации БА в реакционной смеси 3.5 мМ достигаются почти количественные выходы производных, которые при дальнейшем увеличении содержания реагента в системе значительно не меняются. Концентрацию БА 3.5 мМ выбрали для дальнейших исследований.

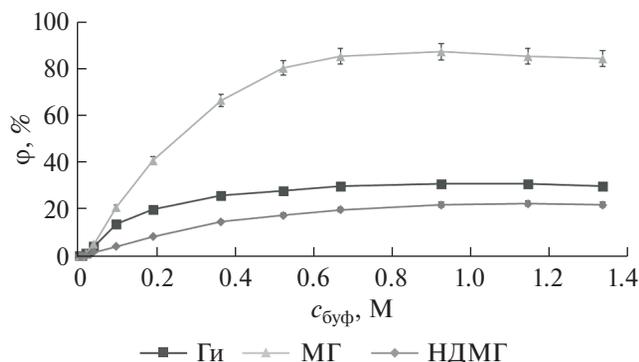


Рис. 2. Зависимости выхода гидразонов (ϕ) от концентрации буферного раствора ($c_{\text{буф}}$) в реакционной смеси (с учетом разбавления пробы). Продолжительность реакции 5 мин ($n = 3$, $P = 0.95$).

Температура. Равновесие реакции дериватизации достигается быстрее при более высоких температурах, однако образующиеся гидразоны могут разлагаться в этих условиях [34]. Зависимости выхода продуктов дериватизации от времени при различных температурах представлены на рис. 3. Как видно, реакция во всех случаях протекает быстрее при повышенных температурах, однако термическое воздействие приводит к уменьшению выхода диметилгидразонов, что связано с разрушением гидразонов и/или исходных веществ в результате ускорения побочных процессов в реакционной смеси, вероятно, окислительно-восстановительной природы. Авторы работ [24, 27, 33] использовали нагревание реакционных смесей с целью уменьшения продолжительности реакции, но это сильно сказывается как на воспроизводимости, так и на потенциальной чувствительности определения. В связи с этим выбрали комнатную температуру в качестве оптимальной для проведения дериватизации. Как видно из рис. 3, в этих условиях для всех гидразинов реакция протекает количественно (выход деривата >99%) примерно за 45 мин.

Таблица 1. Влияние концентрации бензальдегида в реакционной смеси на выход гидразонов (ϕ) (продолжительность реакции 10 мин, $n = 3$, $P = 0.95$)

$c(\text{БА})^*, \text{мМ}$	$\phi(\text{Ги}), \%$	$\phi(\text{МГ}), \%$	$\phi(\text{НДМГ}), \%$
0.2	13.2 ± 0.5	73.4 ± 1.9	8.8 ± 0.6
0.4	25.6 ± 0.7	87.6 ± 1.1	17.2 ± 1.0
0.9	55.1 ± 1.5	99.2 ± 1.0	34.9 ± 1.0
1.7	88.9 ± 0.9	99.0 ± 2.0	65.8 ± 2.6
3.5	92.4 ± 0.9	98.7 ± 3.0	92.3 ± 1.8
6.8	92.8 ± 0.9	94.9 ± 0.7	93.6 ± 0.8
14.0	83.7 ± 3.3	94.0 ± 1.1	92.0 ± 0.9

* Концентрация БА в реакционной смеси.

Для подтверждения количественного протекания реакции в выбранных условиях проводили ионохроматографический анализ реакционной смеси. Пределы обнаружения Ги, МГ и НДМГ по методике [10] составили 1, 2.5 и 5 мкг/л соответственно. Концентрация свободных форм гидразинов оказалась ниже предела обнаружения, что говорит о том, что в выбранных условиях реакция протекает количественно для каждого аналита (>99%).

Концентрация поверхностно-активного вещества. Додецилсульфат натрия относится к типу сульфоанионных ПАВ и в водной среде образует прямые мицеллы. Существование мицелл в растворе возможно только при определенных условиях, а именно при концентрации ПАВ выше критической концентрации мицеллообразования (ККМ). Для выбора количества ДДСН изучили влияние его концентрации в реакционной смеси на выход БА-производных при концентрации БА 0.8 мМ и продолжительности реакции 2 мин (табл. 2).

Известно, что значения первой и второй ККМ и для ДДСН составляют 8.3 и ~80 мМ соответственно [41]. При концентрации ДДСН 87 мМ достигается максимальная скорость образования соответствующих БА-производных, что соответствует второй ККМ. При дальнейшем увеличении концентрации ДДСН выход реакций дериватизации не меняется, поэтому концентрацию ДДСН 87 мМ выбрали для оценки эффективности мицелл в катализе реакций с гидразинами в ранее подобранных условиях (рис. 3). Обнаружили, что применение МК значительно сокращает время достижения количественного выхода дериватов, которое в этих условиях составляет всего 5 мин.

Анализ образцов воды. Для оценки метрологических характеристик и апробации предложенного комбинированного подхода проанализировали образцы водопроводной воды методом ВЭЖХ–СФД. Аналитическим сигналом для построения градуировочной зависимости служила площадь пика соответствующего гидразона. Градуировочные растворы в диапазоне концентраций 1–1000 мкг/л готовили добавлением стандартных растворов гидразинов к пробам водопроводной воды. Предел обнаружения оценивали по отношению сигнал/шум (S/N) = 3. Нижнюю границу определяемых концентраций определяли как $S/N = 10$. Правильность предложенных подходов подтверждали методом введено–найдено (рис. 4). Сходимость рассчитывали по трем параллельным результатам анализа пробы в течение одного дня (табл. 3).

Известная методика определения гидразина [20] в питьевых водах методом ГХ-ПИД с предварительной дериватизацией БА предполагает трудоемкую стадию экстракции и концентрирова-

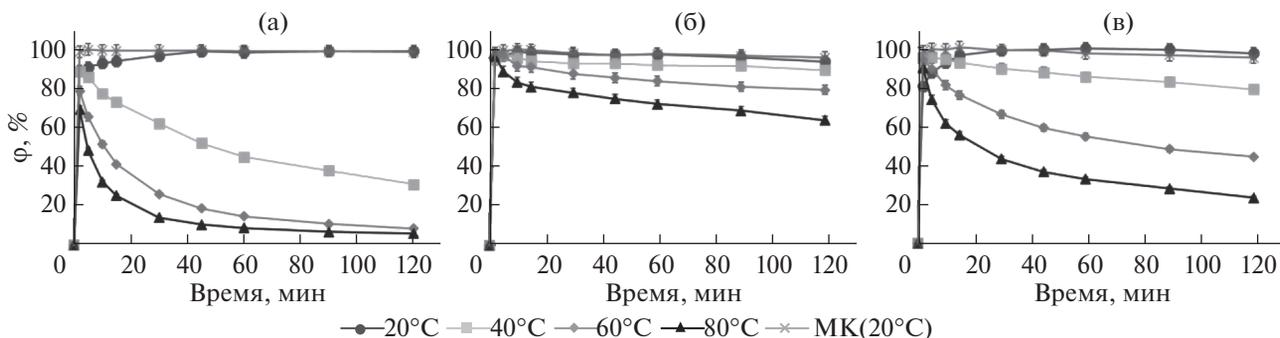


Рис. 3. Зависимости выходов производных с бензальдегидом (ϕ) гидразина (а), метилгидразина (б) и 1,1-диметилгидразина (в) от температуры и продолжительности реакции ($n = 3, P = 0.95$). МК – мицеллярный катализ.

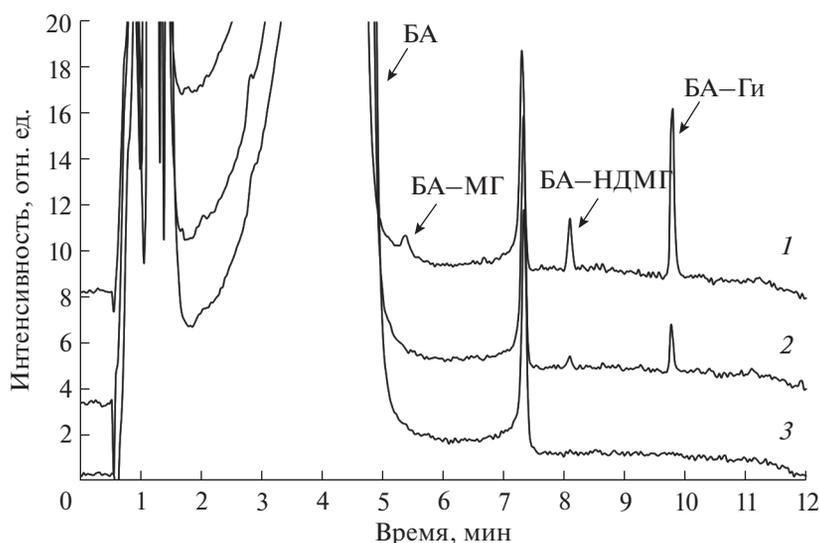


Рис. 4. Наложение экспериментальных хроматограмм образцов водопроводной воды с добавкой по 5 мкг/л каждого компонента (1), по 1 мкг/л (2) и без добавки (3). Длина волны детектирования 300 нм.

ния деривата с упариванием растворителя, при этом дериватизацию проводят в кислой среде при рН 2 в течение 20 мин. Выше отмечено, что в этих условиях выход бензалазина очень низкий, поэтому нижняя граница определяемых концентраций составляет 5 мкг/л с погрешностью определения 40% после стадии сложной пробоподготовки (табл. 4). Другие подходы с использованием БА как дериватирующего реагента [22, 27, 28, 31] также не позволяют одновременно определять гидразин и его алкилпроизводные, поскольку предполагают использование классических буферных систем, в которых выходы БА-производных алкилгидразинов крайне низки. Разработанный нами подход сопоставим по чувствительности с предложенными ранее [10, 24], но характеризуется лучшей воспроизводимостью в области низких концентраций, приемлемой правильностью и широким линейными диапазоном. Методика определения алкилгидразинов с пред-

варительной дериватизацией глиоксалем [25] превосходит предложенную нами по чувствительности, однако она не позволяет определять

Таблица 2. Влияние концентрации додецилсульфата натрия в реакционной смеси на выход производных гидразина, метилгидразина и 1,1-диметилгидразина (ϕ) с бензальдегидом (продолжительность реакции 2 мин, $n = 3, P = 0.95$)

$c(\text{ДДСН})^*$, мМ	$\phi(\text{Ги}), \%$	$\phi(\text{МГ}), \%$	$\phi(\text{НДМГ}), \%$
0	14.3 ± 1.6	40.8 ± 1.6	8.1 ± 1.2
8.7	22.5 ± 1.5	56.0 ± 2.2	12.1 ± 1.4
43	35.8 ± 1.1	68.2 ± 1.4	17.5 ± 1.2
87	36.9 ± 1.3	69.4 ± 1.4	20.3 ± 1.7
173	36.4 ± 1.0	69.6 ± 2.8	20.1 ± 1.3

*Концентрация ДДСН в реакционной смеси.

Таблица 3. Характеристики определения гидразина, метилгидразина и 1,1-диметилгидразина в воде методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием с предварительной дериватизацией бензальдегидом ($n = 3$, $P = 0.95$)

Аналит	ЛДОК*, мкг/л	$S = kc + a$	R^2	c_{\min} , мкг/л	Введено, мкг/л	Найдено, мкг/л	s_r , %
Ги	1–500	$S = (6.8 \pm 0.1)c$	0.999	0.3	1.00	0.97 ± 0.09	3.8
					125	127 ± 6	1.9
МГ	7–1000	$S = (1.96 \pm 0.07)c$	0.998	2.3	7.0	6.4 ± 0.9	5.9
					250	252 ± 19	3.0
НДМГ	5–1000	$S = (1.84 \pm 0.04)c$	0.999	1.3	5.0	5.0 ± 0.5	3.7
					250	247 ± 14	2.2

* Линейный диапазон определяемых концентраций.

Таблица 4. Сравнение методов определения гидразинов (гидразин/метилгидразин/1,1-диметилгидразин) в водных образцах

Метод	Дериватизация	c_{\min} , мкг/л	c_n^* , мкг/л	s_r , %	Источник
ИХ ВЭЖХ–АД	–	0.2/0.5/1	–/–/4	–/–/–	[10]
ГФ ВЭЖХ–МС/МС	–	–/17.6/12.8	–/40/60	14/14/14	[11]
ИХ ВЭЖХ–МС	–	70/30/12	200/80/40	8/5/5	[13]
ГХ–ПИД	Бензальдегид, рН 2, 20 мин, 20°C	–/–/–	5/–/–	40/–/–	[20]
ОФ ВЭЖХ–СФД	5-Нитро-2-фуральдегид, рН 5, 40 мин, 60°C	0.9/0.4/0.2	3.2/1.4/0.7	20/20/20	[24]
ОФ ВЭЖХ–СФД	Глиоксаль, рН 3.5, 20 мин, 25°C	–/0.5/0.25	–/1/0.5	–/15/10	[25]
ОФ ВЭЖХ–СФД	Бензальдегид, рН 7, 30 мин, 70°C	17/–/–	40/–/–	5/–/–	[27]
ОФ ВЭЖХ–МС/МС	2-Нитробензальдегид, рН 5.5, 45 мин, 75°C	–/–/–	1/10/10	11/8/7	[33]
ОФ ВЭЖХ–СФД	Бензальдегид, рН 9.4 (ИК**, МК), 5 мин, 20°C	0.3/2.3/1.3	1/7/5	4/6/4	Данная работа

* Нижняя граница определяемых концентраций, ** иминный катализ.

Ги, поскольку он активно образует с данным реагентом продукты поликонденсации.

Разработанный в данной работе подход не требует применения дополнительных стадий концентрирования, прост, надежен, а реакция протекает количественно всего за 5 мин, сам анализ занимает не более 13 мин. Такого результата удалось добиться благодаря применению иминного и мицеллярного катализа и проведения дериватизации в оптимальных условиях.

* * *

Таким образом, предложен простой, быстрый и чувствительный комбинированный способ определения Ги, МГ и НДМГ в широком диапазоне концентраций (1–1000 мкг/л) методом ОФ ВЭЖХ–СФД с предколонной дериватизацией БА. Впервые применен эффект иминного катализа буферной системы на основе аммония для получения производных гидразинов с последую-

щим аналитическим приложением. Доказан, продемонстрирован и успешно применен эффект ускорения реакций образования гидразонов в присутствии анионного ПАВ – ДДСН. Это позволило не только значительно уменьшить общую продолжительность анализа, что крайне важно в рутинном анализе, но и обеспечить образование производных при низких концентрациях, а также существенно понизить нижнюю границу определяемых концентраций. Показана нецелесообразность нагревания реакционных смесей с целью уменьшения продолжительности реакции из-за разложения образующихся гидразонов. Подтвержден независимым методом ИХ ВЭЖХ–АД количественный выход продуктов дериватизации в оптимальных условиях. Разработанная методика не требует проведения трудоемких стадий концентрирования и выделения веществ, труднодоступных реагентов и оборудования, характеризуется приемлемыми правильностью, воспроизводимостью и чувствительностью, а также широким

линейным диапазоном определяемых концентраций. Применение мицеллярного катализа перспективно как для совершенствования уже известных, так и при разработке новых способов определения гидразинов. Поиск новых систем для иминного катализа позволит интенсифицировать реакции образования гидразонов с другими малоактивными групповыми реагентами. В перспективе разработанные методики могут быть распространены на анализ не только вод, но и любых водных матриц, в том числе кислотных вытяжек и отгонов из почв, а также смывов с поверхностей и отгонов из строительных материалов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-33-90120.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Schmidt E.W.* Hydrazine and its Derivatives. 2nd Ed. N.Y.: John Wiley & Sons, Inc., 2001. 2121 p.
2. *Rothgery E.F.* Hydrazine and its derivatives / Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. N.Y.: John Wiley & Sons, Inc., 2004. P. 562.
3. *Адушкин В.В., Александров Э.Л., Бурчик В.Н.* Экологические проблемы и риски воздействий ракетно-космической техники на окружающую природную среду. М: Анкил, 2000. 640 с.
4. *Белов А.А.* К вопросу о токсичности и опасности гидразина и его производных (обзор) // Современные проблемы токсикологии. 2000. № 1. С. 25.
5. *Choudhary G., Hansen H.* Human health perspective of environmental exposure to hydrazines: A review // Chemosphere. 1998. V. 37. № 5. P. 801.
6. СанПиН 1.2.3685-21. Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания, 2021.
7. *Смоленков А.Д.* Хроматографические методы определения гидразина и его полярных производных // Обзорный журнал по химии. 2012. Т. 2. № 4. С. 334. (*Smolenkov A.D.* Chromatographic methods of determining hydrazine and its polar derivatives // Rev. J. Chem. 2012. V. 2. № 4. P. 329.)
8. *Smolenkov A.D., Shpigun O.A.* Direct liquid chromatographic determination of hydrazines: A review // Talanta. 2012. V. 102. P. 93.
9. *Смоленков А.Д., Родин И.А., Шпигун О.А.* Спектрофотометрические и флуориметрические методы определения гидразина и его метилированных аналогов // Журн. аналит. химии. 2012. Т. 67. № 2. С. 133. (*Smolenkov A.D., Rodin I.A., Shpigun O.A.* Spectrophotometric and fluorometric methods for the determination of hydrazine and its methylated analogues // J. Anal. Chem. 2012. V. 67. № 2. P. 98.)
10. *Smolenkov A.D., Krechetov P.P., Pirogov A.V., Koroleva T.V., Bendryshev A.A., Shpigun O.A., Martynova M.M.* Ion chromatography as a tool for the investigation of unsymmetrical hydrazine degradation in soils // Int. J. Environ. Anal. Chem. 2005. V. 85. № 14. P. 1089.
11. *Kosyakov D.S., Ul'yanovskii N.V., Bogolitsyn K.G., Shpigun O.A.* Simultaneous determination of 1,1-dimethylhydrazine and products of its oxidative transformations by liquid chromatography–tandem mass spectrometry // Int. J. Environ. Anal. Chem. 2014. V. 94. № 12. P. 1254.
12. *Пономаренко С.А., Смоленков А.Д., Шпигун О.А.* Определение 1,1-диметилгидразина и продуктов его разложения методом ион-парной хроматографии // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2: Химия. 2009. Т. 50. № 3. С. 185. (*Ponomarenko S.A., Smolenkov A.D., Shpigun O.A.* Determination of 1,1-dimethylhydrazine and its decomposition products using ion-pair chromatography // Moscow Univ. Chem. Bull. 2009. V. 64. № 3. P. 147.)
13. *Смоленков А.Д., Родин И.А., Смирнов Р.С., Татаурова О.Г., Шпигун О.А.* Применение ионной и ион-парной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием для определения несимметричного диметилгидразина и продуктов его трансформации // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2: Химия. 2012. Т. 53. № 5. С. 312. (*Smolenkov A.D., Rodin I.A., Smirnov R.S., Tataurova O.G., Shpigun O.A.* Use of ion and ion-pair chromatography with mass spectrometric detection to determine unsymmetrical dimethylhydrazine and its transformation products // Moscow Univ. Chem. Bull. 2012. V. 67. № 5. P. 229.)
14. *Kosyakov D.S., Pikovskoi I.I., Ul'yanovskii N.V., Kozhevnikov A.Y.* Direct determination of hydrazine, methylhydrazine, and 1, 1-dimethylhydrazine by zwitterionic hydrophilic interaction liquid chromatography with amperometric detection // Int. J. Environ. Anal. Chem. 2017. V. 97. № 4. P. 313.
15. *Sternson L.A.* General aspects of precolumn derivatization with emphasis on pharmaceutical analysis / Chemical Derivatization in Analytical Chemistry: Chromatography. 1st Ed. / Eds. Frei R.W., Lawrence J.F. Boston: Springer, 1981. P. 127.
16. *Newsome W.H., Collins P.* An improved method for the determination of 1,1-dimethyl hydrazine in apple and cherry products // Int. J. Environ. Anal. Chem. 1988. V. 34. № 2. P. 155.
17. *Holtzclaw J.R., Rose S.L., Wyatt J.R., Rounbehler D.P., Fine D.H.* Simultaneous determination of hydrazine, methylhydrazine, and 1,1-dimethylhydrazine in air by derivatization/gas chromatography // Anal. Chem. 1984. V. 56. № 14. P. 2952.
18. *Сотников Е.Е., Московкин А.С.* Газохроматографическое определение несимметричного диметилгидразина в воде // Журн. аналит. химии. 2006. Т. 61. № 2. С. 139. (*Sotnikov E.E., Moskovkin A.S.* Gas-chromatographic determination of 1,1-dimethylhydrazine in water // J. Anal. Chem. 2006. V. 61. № 2. P. 129.)
19. *Mazur J.F., Podolak G.E., Heitke B.T.* Use of a GC concentrator to improve analysis of low levels of airborne hydrazine and unsymmetrical dimethylhydrazine // Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 1980. V. 41. № 1. P. 66.
20. ПНД Ф 14.1:2.4.191-03. Методика выполнения измерений массовой концентрации гидразина в пробах питьевых, природных и сточных вод газохроматографическим методом, 2003.
21. *Faughnan K.T., Woodruff M.A.* Modified gas chromatographic/mass spectrometric method for determination

- of daminozide in high protein food products // *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1991. V. 74. № 4. P. 682.
22. *Cathum S., Atamaniouk V., Ananieva L., Ladanowski C., Whittaker H.* Gas chromatography–mass spectrometric determination of unsymdimethylhydrazine in soil and water by derivatization with aromatic aldehydes // *Can. J. Chem. Eng.* 1998. V. 76. № 3. P. 680.
 23. *Евгеньев М.И., Евгеньева И.И., Гармонов С.Ю., Исмаилова Р.Н., Белов П.Е.* Сорбционно-хроматографическое определение гидразина и его замещенных в воздухе // *Журн. аналит. химии.* 2006. Т. 61. № 5. С. 492. (*Evgen'ev M.I., Evgen'eva I.I., Garmonov S.Y., Ismailova R.N., Belov P.E.* Sorption-chromatographic determination of hydrazine and its substituted derivatives in air // *J. Anal. Chem.* 2006. V. 61. № 5. P. 452.)
 24. *Амосов А.С., Ульяновский Н.В., Косяков Д.С., Шпигун О.А.* Одновременное определение гидразина, метилгидразина и 1,1-диметилгидразина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с пред- и постколоночной дериватизацией 5-нитро-2-фуральдегидом // *Журн. аналит. химии.* 2018. Т. 73. № 5. С. 389. (*Amosov A.S., Ul'yanovskii N.V., Kosyakov D.S., Shpigun O.A.* Simultaneous determination of hydrazine, methylhydrazine, and 1,1-dimethylhydrazine by high-performance liquid chromatography with pre-and post-column derivatization by 5-nitro-2-furaldehyde // *J. Anal. Chem.* 2018. V. 73. № 5. P. 497.)
 25. *Смирнов Р.С., Смоленков А.Д., Болотник Т.А., Шпигун О.А.* Применение глиоксаля и глиоксиловой кислоты для определения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2: Химия.* 2013. Т. 54. № 1. С. 22. (*Smirnov R.S., Smolenkov A.D., Bolotnik T.A., Shpigun O.A.* The use of glyoxal and glyoxylic acid to determine N- and N,N-alkyl-substituted hydrazines by liquid chromatography // *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2013. V. 68. № 1. P. 17.)
 26. *Филиппов О.А., Тихомирова Т.И., Смоленков А.Д., Цизин Г.И., Формановский А.А., Шпигун О.А.* Выбор условий динамического сорбционного концентрирования производного гептила - N,N-диметилгидразона 4-нитробензальдегида, на гидрофобизированном кремнеземе // *Журн. аналит. химии.* 2001. Т. 56. № 12. С. 1238. (*Filippov O.A., Tikhomirova T.I., Smolenkov A.D., Tsizin G.I., Formanovskii A.A., Shpigun O.A.* Selection of conditions for the dynamic sorption preconcentration of a 1,1-dimethylhydrazine derivative (4-nitrobenzaldehyde N,N-dimethylhydrazone) on hydrophobized silica // *J. Anal. Chem.* 2001. V. 56. № 12. P. 1070.)
 27. *Shustina R., Lesser J.H.* Liquid chromatographic determination of hydrazine, carbohydrazide and thiocarbohydrazide in aqueous solutions // *J. Chromatogr. A.* 1991. V. 464. P. 208.
 28. *Tamás K., Wachter-Kiss E., Kormány R.* Hydrazine determination in allopurinol using derivatization and SPE for sample preparation // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2018. V. 152. P. 25.
 29. *Smolenkov A.D., Chernobrovkina A.V., Smirnov R.S., Chernobrovkin M.G., Shpigun O.A.* A sensitive chromatographic determination of hydrazines by naphthalene-2, 3-dialdehyde derivatization // *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2013. V. 93. № 12. P. 1286.
 30. *Christofi M., Markopoulou C.K., Tzanavaras P.D., Zacharis C.K.* UHPLC-fluorescence method for the determination of trace levels of hydrazine in allopurinol and its formulations: Validation using total-error concept // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2020. V. 187. P. 113354.
 31. *Cui L., Jiang K., Liu D.Q., Facchine K.L.* Simultaneous quantitation of trace level hydrazine and aceto-hydrazide in pharmaceuticals by benzaldehyde derivatization with sample 'matrix matching' followed by liquid chromatography–mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2016. V. 1462. P. 73.
 32. *Susinskis I., Mekss P., Hmelnickis J.* Method development for the determination of 1,1-dimethylhydrazine by the high-performance liquid chromatography–mass spectrometry technique // *Eur. J. Mass Spectrom.* 2018. V. 24. № 4. P. 352.
 33. *An Z., Li P., Zhang X., Liu L.* Simultaneous determination of hydrazine, methylhydrazine, and 1,1-dimethylhydrazine in rat plasma by LC–MS/MS // *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 2014. V. 37. № 9. P. 1212.
 34. *Gojon C., Dureault B.* spectrophotometric study of the reaction between hydrazine and p. dimethylamino-benzaldehyde // *J. Nucl. Sci. Technol.* 1996. V. 33. № 9. P. 731.
 35. *Lunn G., Sansone E.B.* Oxidation of 1,1-dimethylhydrazine (UDMH) in aqueous solution with air and hydrogen peroxide // *Chemosphere.* 1994. V. 29. № 7. P. 1577.
 36. *Dwars T., Paetzold E., Oehme G.* Reactions in micellar systems // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005. V. 44. № 44. P. 7174.
 37. *Yatsimirsky A.K., Yatsimirskaya N.T., Kashina S.B.* Micellar catalysis and product stabilization in hydrazone formation reactions and micellar-modified determination of hydrazine and phenylhydrazine // *Anal. Chem.* 1994. V. 66. № 14. P. 2232.
 38. *Sayer J.M., Peskin M., Jencks W.P.* Imine-forming elimination reactions. I. General base acid catalysis and influence of the nitrogen substituent on rates and equilibria for carbinolamine dehydration // *J. Am. Chem. Soc.* 1973. V. 95. № 13. P. 4277.
 39. *Yildiz I.* A DFT approach to the mechanistic study of hydrozone hydrolysis // *J. Phys. Chem. A.* 2016. V. 120. № 20. P. 3683.
 40. *Erkkilä A., Majander I., Pihko P.M.* Iminium catalysis // *Chem. Rev.* 2007. V. 107. № 12. P. 5416.
 41. *Miura M., Kodama M.* The second CMC of the aqueous solution of sodium dodecyl sulfate. I. Conductivity // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1972. V. 45. № 2. P. 428.

УДК 543.51:616

СФЕРЫ ПРИМЕНЕНИЯ БИОАНАЛИТИЧЕСКОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

© 2021 г. Е. И. Савельева*

*Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА России
ст. Капитолово, гп. Кузьмоловский, Всеволожский район, Ленинградская область, 188663 Россия*

**e-mail: esavelieva59@mail.ru*

Поступила в редакцию 01.03.2021 г.

После доработки 25.03.2021 г.

Принята к публикации 27.03.2021 г.

Области применения современной биоаналитической хромато-масс-спектрометрии столь обширны, что любая попытка их систематизировать оказывается субъективной. Правильнее было бы сказать, что нет такой области биологии и медицины, где хромато-масс-спектрометрия не нашла бы применения. В настоящей статье уделено внимание либо относительно новым, либо недостаточно освещенным в обзорах последних лет сферам применения этого метода. Современные биоаналитические методики стали многоцелевыми в отношении аналитов и унифицированными в отношении матриц. Для биоаналитики особенно важна возможность обнаружения микроконцентраций аналитов на фоне огромного количества макрокомпонентов биоматрицы с помощью хромато-масс-спектрометрии. При целевом хромато-масс-спектрометрическом определении стойких органических загрязнителей основной проблемой является расширение перечня аналитов, в том числе и за счет изомеров. При установлении экспозиции к нестойким токсикантам наряду с гидролитическими метаболитами целевыми биомаркерами становятся фрагментированные аддукты ксенобиотиков с биомолекулами. Общую картину экспозиции человека к сумме воздействующих на него ксенобиотиков отражает экспозом, а физиологическое состояние организма – метаболический статус. Хромато-масс-спектрометрия является одним из ключевых методов в метаболомике. Средствами метаболомики уже сегодня решаются задачи клинической диагностики и антидопингового контроля. Процедуры подготовки биопроб к инструментальному анализу упрощаются и развиваются в направлении возрастающей универсальности. Протеомные технологии с использованием различных вариантов масс-спектрометрии нашли применение при разработке новых методов диагностики коронавирусных инфекций.

Ключевые слова: биоаналитика, хромато-масс-спектрометрия, биомаркер, экспозом, метаболический статус, коронавирусная инфекция.

DOI: 10.31857/S0044450221080132

Бурное развитие биоаналитики, по данным наукометрического исследования [1], является следствием доминирования биомедицины в науке в целом. Процедуры анализа относятся к биоаналитическим в том случае, если анализируемые объекты имеют биогенное происхождение. Аналиты могут иметь биогенную, либо абиогенную природу – в любом случае разнообразие их молекулярных форм обусловлено многообразием процессов биотрансформации. Приложения хромато-масс-спектрометрического (ХМС) анализа, которые рассмотрены ниже, относятся к прижизненному отбору биопроб. Биоматрицы представляют собой многокомпонентные смеси органических соединений. По этой причине для обнаружения, идентификации и количественного определения аналитов в биопробах широко используются высокоэффективные ХМС-методы. Посмертный

анализ биообразцов имеет специфические особенности, обсуждение которых остается за рамками настоящего обзора.

Важным этапом повышения эффективности жидкостной ХМС стало появление колонок с сорбентами, имеющими малое зернение (менее 3 мкм), что сделало возможным сокращение продолжительности анализа при одновременном повышении чувствительности за счет уменьшения ширины пика. Основными характеристиками масс-детектора являются точность измерения масс, разрешающая способность, скорость сканирования и чувствительность. Высокие показатели для первых двух характеристик обеспечивают селективность анализа и возможность установления брутто-формулы при идентификации,

две другие характеристики особенно важны для многоцелевого анализа или скрининга.

В наибольшей степени методически обеспечено определение в биопробах веществ, подпадающих под действие конвенций и законов, ограничивающих или запрещающих их применение. К числу таких веществ относятся стойкие органические загрязнители (СОЗ), компоненты химического оружия, допинговые препараты, наркотические и сильнодействующие вещества. Быстро развивающимся направлением является определение биомаркеров, характеризующих эндогенные процессы или внешние воздействия, в том числе и воздействие химического фактора на отдельного человека или группу лиц.

Поступление токсичных соединений в организм человека из внешней среды не всегда возможно установить. Более достоверные оценки химической нагрузки могут быть получены средствами биомониторинга [2]. Основная задача биомониторинга – оценить химическую нагрузку на человека как на индивидуальном, так и на популяционном уровне.

СТОЙКИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ ЗАГРЯЗНИТЕЛИ

При проведении биомониторинга анализатами преимущественно являются токсичные металлы либо СОЗ, т.е. приоритет отдается персистентным токсикантам, способным к депонированию в биологических тканях [3]. Биомониторинг СОЗ проводится посредством регламентированных аналитических процедур, основанных на применении как газовой, так и жидкостной ХМС [4]. Проблемой является регулярное расширение перечня целевых анализатов для биомониторинга СОЗ, причем часто это изомерные группы соединений, из которых пока только некоторые охарактеризованы параметрами токсичности. Проблемы идентификации и количественного определения соединений группы “новых” СОЗ рассмотрены в монографии [5]. Липофильные СОЗ обычно определяют в крови (плазме, сыворотке, реже в эритроцитах), в грудном молоке [6], значительно реже – в биоптическом материале [7]. Согласованное исследование объектов внешней среды и биопроб на присутствие СОЗ [8] востребовано в наибольшей степени, поскольку позволяет оценить вклад разных источников экспозиции в общую химическую нагрузку на человека и установить характер этой нагрузки. Комплексные подходы к оценке химической опасности требуют разработки унифицированных методик, применимых к анализу проб различного происхождения и матричного состава (вода, почва, пищевые продукты, биопробы). В ряду СОЗ наиболее часто определяют полихлорированные бифенилы, хлорорганические пестициды, бромированные ан-

типирены, преимущественно представленные полибромдифениловыми эфирами. Недавно эта группа была пополнена перфторалкилированными соединениями, в частности перфторалкилсульфонатами и перфтороктановой кислотой. В работе [9] реализован многоцелевой анализ биопроб на содержание СОЗ – представлена новая аналитическая стратегия для одновременного определения 78 галогенорганических СОЗ в сыворотке крови человека, а именно: 40 антипиренов, включая 7 новых бромированных и хлорированных антипиренов; 19 перфторалканов; 11 хлорорганических пестицидов и 8 полихлорированных бифенилов. При подготовке к анализу из сыворотки крови извлекали две фракции анализатов: (I) неполярную гидрофобную и (II) более полярную и гидрофильную. Фракцию I извлекали из сыворотки крови трехступенчатой экстракцией смесью гексана и диэтилового эфира (9 : 1, по объему) с последующей очисткой экстракта на флорисиле. Фракцию II извлекали из остатка сыворотки после извлечения неполярной фракции I с помощью модифицированной процедуры QuEChERS. Для всех анализатов удалось достичь биологически обусловленных пределов обнаружения и получить удовлетворительные метрологические характеристики, необходимые для проведения количественного анализа. В работе [10] представлены результаты индивидуального определения методом жидкостной ХМС с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ–МС/МС) некоторых соединений, входящих в список Хельсинской комиссии по защите морской среды ХЕЛКОМ, а также предложена процедура одновременного определения группы перфторорганических кислот, производных эстрадиола, гексабромциклододекана и триклозана. Грудное молоко, кровь или пуповинную кровь обычно используют для определения полихлорированных бифенилов, диоксинов, хлорорганических пестицидов, бромсодержащих ингибиторов горения, перфторированных и оловоорганических соединений [11, 12]. Пробы мочи анализируют на содержание бисфенола А, ортофосфатов, гидроксированных метаболитов полиароматических углеводородов, фталатов [13, 14]. Погрешность результатов анализа зависит от биологического материала: максимальная при анализе мочи, промежуточная при анализе крови, наименьшая при анализе грудного молока. Кроме того, вариабельность результатов ниже при определении липофильных соединений, выше при определении полярных и гидролитических метаболитов. Газовая ХМС (ГХ–МС) преобладает при определении СОЗ в крови и грудном молоке, ВЭЖХ–МСⁿ в моче. Такое распределение [15] обусловлено тем, что с мочой выводятся гидрофильные соединения, а гидрофобные по-

степенно выделяются в кровь из тех органов и тканей, в которых они депонируются.

НЕСТОЙКИЕ ВЫСОКОТОКСИЧНЫЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ

В отличие от СО₂, нестойкие органические соединения претерпевают в организме быстрые метаболические превращения и экскретируются с мочой в форме гидролитических метаболитов либо образуют аддукты с биомолекулами. Для определения таких соединений применяют два самостоятельных подхода: определение свободных метаболитов и биомолекулярных аддуктов [16]. Наиболее яркими представителями нестойких органических супертоксикантов являются отравляющие вещества (ОВ), аналитическая ХМС которых после завершения программы уничтожения химического оружия сохраняет актуальность в рамках верификационной деятельности. До недавнего времени считали, что определение интактных ОВ в биосредах вообще невозможно ввиду их стремительной биотрансформации, в том числе и посмертной. В то же время задача определения интактных ОВ актуальна не только в целях верификации, но и для токсикокинетических исследований. Для успешного определения интактных ОВ в биосредах необходимо не только обеспечить высокую чувствительность и селективность анализа, но и остановить биоконверсию ОВ в уже отобранной пробе. В 2020 г. был представлен способ определения интактных фосфорорганических ОВ (ФОВ) G-типа в цельной крови [17]. Дериватизацию ФОВ 2-[(диметиламино)метил]фенолом проводят в сухих пятнах крови. После высушивания полученные производные экстрагируют и определяют методом ВЭЖХ–МС/МС. Градуировочная характеристика линейна в диапазоне концентраций 3–300 нг/мл. Авторы сообщают о средней степени извлечения аналитов 34% во всем линейном диапазоне. Предел обнаружения составляет 0.7 нг/мл. В виде производного зарин стабилен в сухих пятнах крови при комнатной температуре в течение 19 дней. Таким образом, капля цельной крови может быть отобрана в условиях полевого госпиталя, перенесена на бумажный носитель, высушена и обработана 2-[(диметиламино)метил]фенолом. Законсервированные таким образом биопробы могут быть направлены в стационарные лаборатории без особых требований к условиям транспортировки, например в почтовых конвертах. Ранее была предложена технология определения аддуктов ФОВ с альбумином в сухих пятнах плазмы крови [18]. Подход, основанный на применении сухих пятен крови (dried blood spot) интересен, в первую очередь, возможностью легкой стабилизации исследуемого образца, позволяющей избежать деградации в процессе хранения и транспортировки. Ключевым

критерием при этом является полнота десорбции аналита с бумажного носителя.

В крупных аналитических центрах разрабатываются и проходят апробацию в международных профессиональных тестах процедуры обнаружения и идентификации гидролитических метаболитов и биомолекулярных аддуктов высокотоксичных соединений. При этом ковалентные аддукты ксенобиотиков с белками и ДНК рассматриваются в качестве ретроспективных маркеров экспозиции. Время их жизни сопоставимо со сроком существования в организме биомолекул, образующих аддукты, но ограничено процессами “старения”, в ходе которых происходит трансформация присоединенного остатка ксенобиотика или его метаболита. Следствием старения становится потеря структурных признаков исходных веществ, затрудняющая их однозначную идентификацию, и утрата способности к реактивированию. Основные белки крови альбумин и гемоглобин, содержание которых в организме человека колеблется на уровне 40 и 150 мг/мл соответственно, принимают на себя воздействие той части нестойких токсикантов, которая не подверглась гидролизу сразу после поступления в организм. Учитывая то, что среднее время жизни молекулы гемоглобина в организме человека составляет 120 дней, а альбумина – 20 дней, использование аддуктов с ними в качестве маркеров отравления ФОВ весьма перспективно. При этом альбумин является основным белком плазмы крови, которая, в отличие от цельной крови, хорошо переносит заморозку/разморозку, удобна для транспортировки и подготовки к анализу. С другой стороны, содержание в крови ДНК сравнительно мало (0.05 мг/мл), причем содержится она преимущественно в лейкоцитах, а ее выделение является достаточно трудоемким процессом, поэтому основной тенденцией в развитии методов обнаружения и идентификации биомаркеров нестойких токсикантов считают совершенствование технологий исследования аддукта альбумина и гемоглобина крови [19] и, как обосновано ниже, мочевого ДНК-аддукта.

Добавленное к области других омиксных технологий понятие “аддуктомика” применимо не только к установлению факта воздействия токсиканта на организм, но и к оценке последствий этого воздействия. Понятие “аддуктом” по аналогии с метаболомом, транскриптомом и т.д. применяется в биоаналитике с начала XXI в. В качестве примера можно привести работу [20], авторы которой методом ВЭЖХ–МС/МС проводили биомониторинг аддуктов алкилирующих агентов с ДНК в тканях легких. Термин “аддуктомика” применен в недавно опубликованной работе [21], посвященной определению биомолекулярных аддуктов ОВ. Перечень биомаркеров экспозиции расширяется за счет идентификации новых кова-

лентных аддуктов ксенобиотиков с белками и ДНК [22].

Аддуктомные технологии используют не только для установления факта экспозиции, но и для молекулярного биомониторинга ее последствий [23]. Как жители мегаполисов, так и работники предприятий химического профиля подвергаются сочетанному воздействию разных токсикантов. Токсикологические интерференции, как и возможный кумулятивный эффект при таком воздействии, необходимо учитывать [24], поэтому эффективным подходом при проведении биомониторинга представляется определение большого набора аналитов в рамках одной методики. При этом даже такие методики не позволяют оценить воздействие на организм тех токсикантов, которые не были учтены заранее и остались за рамками контролируемого перечня.

Учесть в полной мере химическую нагрузку на организм человека из разных источников (вода, пищевые продукты, воздух, промышленные выбросы, пассивное непреднамеренное потребление лекарственных средств, автомобильный транспорт и т.д.) в рамках целевого анализа невозможно. В итоге невозможно обоснованно предсказать риски здоровью, развивающиеся вследствие неизвестной химической нагрузки. В ответ на такой вызов область задач ХМС-анализа биопроб расширилась от определения индивидуального органического соединения до исследования экспозома и метаболического статуса организма.

ЭКСПОЗОМ

Под экспозомом понимают сумму ксенобиотиков и их биомаркеров в организме. Лексически “экспозом” – производное от экспозиции. Экспозом характеризует общую химическую нагрузку на организм, которая может быть частично оценена непосредственным обнаружением известных ксенобиотиков или их метаболитов в организме или регистрацией метаболического ответа на нагрузку, характер которой в этом случае будет выявлен по косвенным признакам. Во втором случае отделить воздействие собственно химического фактора от биологического и даже психологического стресса не всегда возможно [25].

В работе [26] предпринята попытка описать экспозом в количественных категориях. Общее количество соединений, составляющих экспозом, оценивается на уровне 400 000, в то время как метаболом человека насчитывает более 1 млн соединений. Экспозом можно охарактеризовать как часть метаболома, охватывающую соединения, поступающие из внешней среды, и их метаболиты. В последние годы во избежание разночтений появился термин “химический экспозом” [27].

При исследовании состава экспозома, сформированного органическими загрязнителями природной и техногенной среды, необходимые чувствительность и селективность достигаются за счет применения ХМС высокого разрешения [28]. Современная биоаналитика предоставляет возможность не только установить состав ксенобиотиков и продуктов их трансформации в организме человека, но и охарактеризовать ответ организма на сочетанное воздействие ксенобиотиков, оценить состояние жизненно важных систем [29]. На основе применения комплексного диагностического аппарата можно дать обоснованные рекомендации по детоксикации организма и раннему предупреждению развития патологий, которые могут быть “запущены” сочетанным воздействием внешних факторов. Такие укоренившиеся в современной медицине и биологии понятия, как геном, микробиом, метаболом, транскриптом, протеом, иммуном, экспозом, аддуктом и прочие “омы”, развиваются преимущественно с использованием различных вариантов ХМС-анализа.

Из множества соединений, поступающих в организм человека из окружающей среды, в последние годы особое внимание уделяется тем, которые оказывают повреждающее воздействие на ДНК [30]. Повреждение ДНК лежит в основе многих заболеваний: онкологических, нейродегенеративных, сердечно-сосудистых [31]. Лишь незначительная часть токсикантов воздействует на ДНК напрямую, чаще сначала происходит метаболическая активация с образованием электрофила или индукция активного радикала с высоким окислительным потенциалом. Далее при воздействии этих активных форм может происходить нарушение структуры нуклеиновых оснований, их химическая модификация, поломка цепочек ДНК и нарушение их сопряжений [32]. Если естественная система репарации не справляется с повреждениями, накоплением мутаций в генах, контролирующих клеточный рост, пролиферацию, программируемую дифференциацию и гибель клеток, то, согласно современным представлениям, создается риск развития онкологических заболеваний [33]. Известно, что нуклеотиды образованы соединением нуклеозида и фосфата, а нуклеозиды, в свою очередь, состоят из моносахарида и азотистого основания, которые и являются основной мишенью воздействия алкилирующих агентов. Обычно повреждение азотистых оснований заключается в окислении, деаминировании, алкилировании и кросс-сопряжениях, возникающих в их наиболее уязвимых сайтах, что иллюстрирует рис. 1, составленный по материалам статьи [34]. Как видно, наиболее уязвимыми сайтами являются O2 и O4 тимины, N7, O6, C8 и N2 гуанины, N1, N3 и N7 аденины, O2 и N4 цитозины.

Полагают, что негативные последствия наступают при поломке даже очень незначительного количества нуклеотидов. Такие изменения можно зафиксировать только сверхчувствительными методами. Важной задачей является повышение чувствительности ВЭЖХ–МС/МС-анализа в отношении именно нуклеотидов, способность к ионизации которых относительно невысока.

В отличие от других биомолекул, ДНК содержится практически во всех биологических средах организма. Почечная экскреция аддуктов ксенобиотиков с ДНК происходит в депурированном виде, по этой причине ДНК экспозом легче оценивать при анализе мочи [35]. В работе [36] представлен метод исследования мочевого ДНК-аддуктома как наиболее чувствительной части экспозома путем ВЭЖХ–МС/МС-анализа мочи. В последние годы применение масс-спектрометров высокого разрешения (времяпролетных и орбитальных ловушек) позволило получить новые данные о повреждениях ДНК, вызываемых различными химическими соединениями [37]. Например, биомаркерами для оценки повреждающего воздействия на ДНК ацетальдегида [38], акролеина [39], кротонового альдегида [40] являются ковалентные аддукты с дезоксигуанозином в положении N2, для сернистого иприта – с гуанином в положении N7 [41]. Определение таких аддуктов в биообразцах можно проводить посредством количественного многоцелевого ХМС-анализа и в перспективе, вероятно, этот подход дополнит комплекс средств биомониторинга генотоксичных соединений.

В свете оценки общих повреждений ДНК, наступающих вследствие суммы факторов, в том числе и неизвестных, возникла задача нецелевой ДНК-аддуктомики. Первая попытка в этой области была предпринята в 2006 г. [42] с использованием трехкварупольного ВЭЖХ–МС/МС в режиме электрораспылительной ионизации при мониторинге выделенных реакций (SRM) с регистрацией переходов $[M + H]^+ \rightarrow [M + H - 116]^+$, где m/z 116 соответствует отщеплению 2-деоксирибозы. Позднее в режиме регистрации нейтральных потерь при использовании аналогичной инструментальной техники авторы работы [43] объединили целевое и нецелевое определение аддуктов ДНК в одном анализе. Выделение фрагментированных аддуктов с мочой отражает процесс репарации, если допустить, что репарация происходит за счет вырезки отдельных участков ДНК. В результате этого процесса с мочой выделяются модифицированные алкилирование или окислением (рис. 1) аддукты дезоксирибонуклеозидов и азотистых оснований, образующие так называемый “ДНК-аддуктом” мочи. В работе [43] он представлен в виде пяти трехмерных карт для каждого образца мочи. По оси абсцисс откладывают времена удерживания, по оси

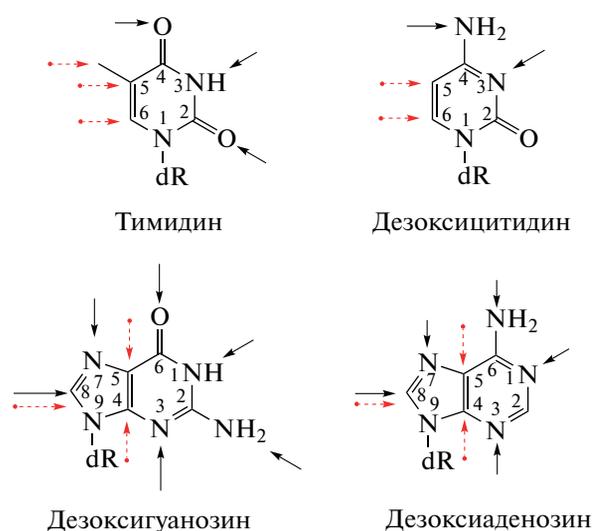


Рис. 1. Наиболее уязвимые сайты нуклеиновых оснований для окисления (•••••) и/или алкилирования (→) с образованием аддуктов (dR – дезоксирибоза).

ординат – массовые числа m/z , по оси z – нормализованные площади пиков. Ниже показано, что авторы использовали стандартный режим ВЭЖХ–МС/МС-анализа, а новизна подхода заключалась в объеме и структурировании его результатов. При подготовке к анализу образцы мочи наносили на картриджи C18, промывали водой и элюировали метанолом. Элюат упаривали и повторно растворяли в 100 мкл деионизованной воды, после чего анализировали методом ВЭЖХ–МС/МС в градиентном обращенно-фазовом режиме с использованием гибридного масс-спектрометра тройной квадруполь-линейная ионная ловушка. Ионизацию электрораспылением осуществляли в положительной полярности при следующих характеристиках во всем диапазоне сканирования массовых чисел: потенциал декластеризации 40 В, входной потенциал 10 В, энергия коллизии 30 эВ.

Процедура была настроена с использованием 6-модельных 2'-деоксирибонуклеозидов и 10 азотистых оснований. Пределы обнаружения аналитов находились в пределах от 0.2 до 7 нг/ввод. После обработки и фильтрации выделено до 5000 полезных пиков. Не останавливаясь подробно на методах обработки данных, отметим, что после межлабораторных интеркалибровок и дальнейшей настройки метода он может быть пригоден для описания (картирования) мочевого аддуктома человека и является первой, хотя и находящейся в стадии разработки, попыткой описания ДНК-экспозома человека.

Исследования, направленные на определение больших групп аналитов и даже “омов” – экспозома, метаболома, липидома и др., воспринимаются как нестандартные, но все-таки химико-

аналитические процедуры. Пока трудно понять, могут ли рассматриваться в этом ряду масс-спектрометрические методы непосредственного наблюдения биологического процесса, статуса или проблемы (отклонения от нормы). Так, авторами работы [44] предложен способ прямого масс-спектрометрического анализа биологических тканей. С помощью пьезоэлектрического диспенсера поверхность биообразца обрабатывается нанокляпями растворителя, которые выбивают из биопробы и одновременно ионизируют наночастицы, транспортируемые в масс-детектор. С помощью такого подхода получен обобщенный профиль мозговой ткани мыши. Авторы утверждают, что при этом удастся достоверно различить профили здоровой и опухолевой ткани. Подобные подходы представлены в литературе под общим названием “высокопроизводительный скрининг” [45], основная цель которого – быстрый анализ сложных объектов. Делаются попытки реализовать такие технологии при исследовании биотрансформации ксенобиотиков, при обнаружении грубых метаболических сдвигов в рамках целевой метаболомики, при оценке распределения ксенобиотиков в организме. Здесь применимы изотопные метки, а сам анализ должен быть быстрым и в идеале многолучным (планшетным).

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СТАТУС

Терминология, предписывающая называть продукты трансформации веществ в окружающей среде маркерами, а в биологических объектах биомаркерами [46], подразумевает, что в качестве биомаркеров выступают аналитически регистрируемые формы нахождения определенного вещества в биопробе. Термин “биомаркер” как индикатор физиологических и патологических биологических процессов или фармакологических ответов на терапевтическое вмешательство [47] был предложен в 2001 г. Национальным институтом здоровья США. В качестве биомаркера в этой трактовке может выступать любая характеристика, которую можно объективно измерить и которая может служить индикатором того или иного процесса. Таким образом, мы можем говорить о биомаркерах метаболических расстройств, окислительного стресса, хронической усталости и других процессов. Если так, то биомаркер может быть химическим соединением, но это понятие в некоторых случаях можно рассматривать шире. В обзоре [48], посвященном клиническим приложениям масс-спектрометрии, в качестве биомаркеров предложено рассматривать группы соединений, а также метаболит (для низкомолекулярных) или протеом (для белков) в целом.

Под метаболическим статусом организма подразумевают многомерную картину качественного

и количественного состава биогенных компонентов. В большинстве случаев определяют грубые отклонения метаболического статуса от нормы в целях диагностики заболеваний. Наиболее известным и разработанным воплощением этого направления является диагностика врожденных метаболических расстройств методом тандемной масс-спектрометрии. Это жизненно важное приложение ХМС-анализа доказало свою безусловную полезность и непрерывно совершенствуется. В работе [49] предложена и апробирована при анализе более 1000 образцов технология быстрого определения расширенного перечня метаболических болезней при анализе сухого пятна крови. Огромное количество работ посвящено ранней диагностике онкологических заболеваний методами ХМС на платформе метаболомики. Пока результаты этих исследований слишком противоречивы, чтобы рекомендовать какую-либо ХМС-технологии в качестве надежного диагностического метода.

В последние годы в ряде исследований обоснованы химико-аналитические критерии, соответствующие функциональному состоянию, характеризующемуся как утомление, перетренированность, хроническая усталость. При контекстном поиске по ключевым словам “mass-spectrometry”, “exercise”, “fatigue” и “metabolomics” литературные источники за последние 5 лет (2017–2021 гг.), доступные в системе Science direct, можно разделить на четыре основные группы (табл. 1). Всего обнаружено 93 публикации.

Из табл. 1 следует, что биомаркеры, безусловно ассоциированные с физической нагрузкой, пока не установлены, так как преобладают (42 из 93) исследования общего плана, нацеленные на поиск этих биомаркеров. По-видимому, к числу таких биомаркеров будут отнесены не абсолютные концентрации биогенных веществ в моче или крови, а соотношения концентраций или более сложные многомерные показатели. Методы ХМС предоставляют огромный объем информации. На данный момент ключевой проблемой представляется разработка алгоритмов сопоставления этой информации с широким набором физиологических показателей с учетом их различной значимости. Основной стратегией метаболомики в спорте является исследование метаболических сигнатур плазмы крови [50, 51]. Считается, что метаболическое профилирование позволяет получить опосредованную информацию о метаболическом фенотипе и непосредственную – о концентрациях тех низкомолекулярных метаболитов, которые вовлечены в развитие физиологического эффекта [52].

В ряде работ [53, 54] для сбора первичной информации о низкомолекулярных метаболитах, ответственных за состояние переутомления, ис-

пользовали ЯМР-спектроскопию. Преимуществом капиллярного электрофореза при метаболическом профилировании является возможность определения высокомолекулярных маркеров [55], однако ввиду высокой стоимости и недостаточного распространения приборных комплексов, совмещающих капиллярный электрофорез со спектральными методами, он применяется относительно редко и преимущественно в целевой метаболомике. Таким образом, различные варианты ХМС-анализа заведомо преобладают в омиксных технологиях. В работе [56] концентрации целевых метаболитов определяли методом ГХ–МС, а в качестве диагностических критериев использовали соотношения концентраций метаболитов. Объединенная группа из семи университетов США [57] с использованием ВЭЖХ–МС/МС провела масштабное исследование, целью которого являлось установление связи между функциональным состоянием высокотренированных спортсменов и метаболическими профилями их крови. Работа выполнена в технике нецелевой метаболомике. Статистическую обработку данных проводили с использованием метода инвариантных множеств семейств линейных и нелинейных дискретных систем. Всего идентифицировано 743 метаболита. Концентрации веществ из группы гамма-глутаминовой кислоты оказались значимо выше в группах спортсменов как с высокой мощностью, так и с высокой выносливостью. Это, по мнению авторов, является следствием активной работы глутатионового цикла. Высокая выносливость ассоциировалась с повышенной выработкой половых гормонов тестостерона и прогестерона, при этом у спортсменов с высокой выносливостью были достоверно снижены уровни содержания диацилглицеридов и эйкозаноидов в крови. Высокая мощность также ассоциировалась с высокими уровнями содержания в крови фосфолипидов и ксантина. В 2019 г. итальянские авторы опубликовали обзор [58], в котором суммировали результаты метаболомных исследований биожидкостей спортсменов, которые испытывали экстремальные нагрузки. В качестве общего вывода отмечено, что высокая мощность и высокая выносливость ассоциированы с такими биохимическими процессами, как биосинтез стероидов, метаболизм жирных кислот, окислительный стресс и энергетический обмен. В метаболомике спорта, как и в метаболомике в целом, чувствительность анализа не является приоритетом, поскольку биогенные аналиты (метаболиты) присутствуют в пробах в высоких концентрациях. Наиболее высокие требования в целевой метаболомике предъявляются к достоверности количественных определений, а в нецелевой метаболомике — к достоверности идентификации метаболитов и производительности анализа. В табл. 2 суммированы результаты некоторых ХМС-исследований

Таблица 1. Направления исследований метаболомике физических нагрузок, выполненных с использованием масс-спектрометрии в 2017–2021 гг.

Тематика исследований	Доля от общего количества публикаций, %
Изменения в метаболических профилях мочи или крови под влиянием физических нагрузок	42
Метаболический статус организма, соответствующий пику физической формы	18
Влияние нутритивной поддержки на переносимость физических нагрузок	12
Метаболомика усталости, перетренированности в отсутствие патологии/болезни	12
Изменения в метаболических профилях мочи и крови под влиянием физических нагрузок на фоне заболеваний (сердечно-сосудистые, метаболический синдром, диабет, неврологические, гериатрические)	9

в области метаболомике последствий экстремальных нагрузок. Как видно, закономерности, отмеченные в обзоре [58], в целом находят подтверждение.

Продолжая тему спорта, нельзя не отметить, что антидопинговый контроль базируется почти исключительно на ХМС-анализе и представляет собой хорошо отлаженную потоковую систему, совмещающую скрининговые и подтверждающие процедуры анализа. Оба направления непрерывно совершенствуются [71, 72]. Появляются сведения о долгоживущих метаболитах запрещенных субстанций, что позволяет расширить временное окно их обнаружения. Как стандартные, так и инновационные процедуры антидопингового ХМС-анализа остаются за рамками настоящего обзора, поскольку чрезвычайно широко представлены и обобщены в литературе [73 и др.]. Пока метаболомные подходы в допинговом контроле относятся к разряду перспективных разработок и не применяются в режиме потокового анализа. Исключение составляет стероидный профиль мочи [74].

Известно, что отрицательный результат целевых допинг-тестов далеко не всегда гарантирует отсутствие запрещенных веществ в организме спортсмена, что привело к появлению парадигмы биологического паспорта. Стероидный модуль биологического паспорта особенно важен, поскольку дизайнерские, т.е. не охватываемые списком ВАДА, анаболические стероиды отно-

Таблица 2. Результаты метаболомных хромато-масс-спектрометрических исследований биожидкостей людей, подвергавшихся нагрузкам разной степени тяжести

Биоматрица	Метод	Биомаркеры	Литература
Плазма крови	ГХ–МС	К возрасту и степени тренированности чувствительны: аланин, лактат β-диметилглюкопиранозид, пироглутаминовая кислота, цистеин, глутаминовая кислота, глутамин, свободные жирные кислоты, валин	[59]
Плазма крови	ВЭЖХ–МС	При умеренных нагрузках в плазме крови повышается содержание октаноил, деканоил, додеканоил-карнитинов	[60]
Плазма крови	ВЭЖХ–МС	У марафонцев повышено содержание глицерина, ниацинамида, глюко-6-фосфатов, пантотената, сукцината в сравнении с обычными людьми	[61]
Плазма крови	ВЭЖХ–МС	После нагрузки, сопряженной с гипоксией, повышен уровень лизофосфатидилхолинов, лизофосфатидилдиглицерола, лизофосфатидилэтаноламина, лизофосфатидилглицерола, метаболитов, ассоциированных с гемолизом	[62]
Слюна	ВЭЖХ–МС	После экстремальной нагрузки повышены креатинин, глюкоза, метаболиты антиоксидантного действия	[63]
Плазма крови	ГХ–МС, ВЭЖХ–МС	С нагрузкой ассоциированы 13- и 9-гидроксиоктадекановые кислоты	[64]
Плазма крови	ГХ–МС	После экстремальной нагрузки повышалось содержание в плазме трикарбоновых кислот и мононенасыщенных жирных кислот	[65]
Моча	ВЭЖХ–МС	С гипоксией ассоциированы 1-метиладенозин, 5-метилтиоаденозин, 3-индолуксусная кислота, 1-глутаминовая кислота	[66]
Моча	ЯМР, ВЭЖХ–МС	С нагрузкой ассоциированы триметиламиноксид, фенилаланин, лактат, аланин, триметиламин, малонат, таурин, глицин	[67]
Моча	ВЭЖХ–МС	С нагрузкой ассоциированы пурины, триптофан, карнитин, кортизол, продукты окисления аминокислот и метаболиты микрофлоры кишечника	[68]
Плазма крови	ВЭЖХ–МС	После 4-дневного марафона уровни свободных жирных кислот, трикарбоновых кислот, метаболитов разветвленных аминокислот в плазме повысились. Уровни моноацилглицеридов, липидов понизились	[69]
Плазма крови	ВЭЖХ–МС/МС	При нагрузке повысились уровни карнитина, 3-метилмиристиновой и себаценовой кислот в плазме	[70]

сятся к наиболее распространенным допинговым субстанциям [75].

В основе стероидного модуля биопаспорта спортсмена лежит определение биомаркеров мочи, вовлеченных в метаболизм эндогенных стероидов. Определение концентраций этих мочевых биомаркеров представляет собой сложную задачу, поскольку стероиды выводятся с мочой главным образом в конъюгированном виде (глюкурониды или сульфаты) [76]. Таким образом, перед проведением ГХ–МС/МС-анализа, рекомендуемого ВАДА в качестве стандартного метода определения эндогенных анаболических стероидов, требуется проведение специфичной пробоподго-

товки [77], включающей энзиматический гидролиз мочи, экстракцию и дериватизацию определенных эндогенных стероидов. По мере накопления опыта в области контроля стероидного профиля мочи спортсменов было отмечено [78], что важнейшей проблемой является трактовка результатов определения концентраций и маркерных соотношений эндогенных стероидов в моче ввиду их существенной зависимости от генетического полиморфизма.

При констатации в пробе мочи атипичного результата (концентрации или соотношения концентраций, которые выходят за рамки референтных значений), используют метод изотопной

масс-спектрометрии, наиболее часто нацеленный на обнаружение “псевдоэндогенных” стероидных гормонов [79].

Дальнейшее развитие стероидного модуля заключается в разработке персонализированного подхода к интерпретации критериальных показателей стероидного профиля и арбитражных анализов методом изотопной ГХ–МС [80, 81]. Предложен метод контроля стероидов в слюне, обеспечивающий возможность взятия пробы непосредственно перед и после (а иногда и во время) соревнования или тренировки [82]. Несмотря на то, что в антидопинговый контроль вкладывают огромные средства, открываемость запрещенных препаратов остается достаточно низкой, что обуславливает актуальность развития метабомики в спорте. По всей вероятности, в будущем роль биологического паспорта спортсмена в общей схеме антидопингового контроля будет возрастать.

Антидопинговый контроль пересекается с химико-токсикологическим анализом не только общностью ХМС-методов и определяемых веществ (как известно, стимуляторы и наркотики запрещены в спорте), но также и высокой мерой ответственности за результаты анализа, нередко оспариваемые в суде. В то же время методология химико-токсикологического анализа, одного из древнейших направлений аналитической химии, существенно отличается от методологии антидопингового контроля. Критерии и система аккредитации в антидопинговом контроле едины для всех лабораторий. Химико-токсикологический анализ также жестко регламентирован, но регулирующие системы имеют существенные национальные особенности. Подробно не вдаваясь в эту далекую от аналитической науки тему, отметим лишь некоторые современные тенденции в химико-токсикологическом анализе.

ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Классический химико-токсикологический анализ преимущественно нацелен на определение относительно малых молекул. Метод ГХ–МС с моноквадрупольным масс-детектированием на протяжении уже почти полувека удерживает позиции золотого стандарта при скрининговых исследованиях, поскольку опирается на обширные и постоянно пополняемые базы данных масс-спектров и индексов удерживания. Значение оперативно пополняемой доступной на сайте <http://sudmed-ms.info> некоммерческой библиотеки масс-спектров трудно переоценить. Это самый эффективный и доступный инструмент для обнаружения в биопробах новых психоактивных соединений. Чрезвычайно эффективен ГХ–МС-скрининг для обнаружения малых молекул умеренно токсичных соединений, например, при

установлении случаев передозировки или немедицинского применения лекарств, а также дизайнерских наркотиков [83].

Для обнаружения и идентификации биомаркеров более токсичных соединений, особенно в тех случаях, когда экспертиза проводится через длительное время после отравления, и основная доза токсиканта выведена из организма, чувствительности моноквадрупольного масс-детектора уже недостаточно. Тандемное масс-спектрометрическое детектирование ввиду высокой селективности позволяет обнаруживать токсичные соединения и их метаболиты в биологических матрицах с высокой чувствительностью [84]. Как правило, низкомолекулярные метаболиты являются более полярными, чем вещества, из которых они образовались. С увеличением полярности метаболитов возрастает их растворимость в водных средах и соответственно скорость выделения из организма через почки с мочой [85]. Это повышает шансы обнаружения мочевых метаболитов в ранние сроки после отравления, а в отдаленные сроки — понижает. В отличие от плазмы крови, моча не требует специальной обработки сразу после отбора, состав органических соединений в моче в меньшей степени подвержен искажениям в процессе отбора, хранения и транспортировки. Как правило, концентрации биогенных аналитов в моче не меняются значительно при прохождении нескольких циклов заморозки–оттаивания. Моча по сравнению с кровью менее насыщена органическими соединениями, которые не только подвержены окислению, но и могут выступать в качестве промоторов окисления [86]. Таким образом, моча как биоматрица имеет много преимуществ при определении малых молекул: неинвазивный отбор, большой объем, минимальное мешающее влияние протеинов и липидов, высокие концентрации большинства ксенобиотиков за счет их концентрирования в почках [87]. Недостатком мочи как биоматрицы является высокое содержание мочевины, мешающее как прямому ГХ–МС-анализу, так и полноте дериватизации. Устранение мешающего влияния мочевины путем минерального или энзиматического гидролиза можно рекомендовать для целевого анализа. В обзорном анализе минеральный гидролиз может привести к искажению компонентного состава мочи и частичной или полной потере некоторых аналитов за счет их разложения. Применение энзиматического гидролиза (обработка уреазой), как правило, приводит к повышению матричного эффекта в режиме регистрации полного ионного тока и, как следствие, к потере минорных аналитов за счет повышения пределов их обнаружения. Для целевого определения малых молекул в моче предложены алгоритмы оптимизации рН и выбора экстрагента [88, 89]. При подготовке к обзорному ГХ–МС- и ВЭЖХ–МСⁿ-анализам часто используют высаливание или вымораживание в

ацетонитрил. При этом удается не потерять даже такие полярные аналиты, как алкилметилфосфоновые кислоты [90].

Если “приборная” часть процедуры ХМС-анализа в большинстве случаев формализована и осуществляется в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя, то способы подготовки биопроб к ХМС-анализу являются предметом разработок и оптимизации. Совершенствуется техника твердофазной экстракции с применением многослойных колонок и дробного элюирования. В развитии методов микроэкстракции в биоаналитике генерализованная линия пока не прослеживается. Различные варианты жидкостной [91] и твердофазной [92] микроэкстракции рассмотрены и систематизированы даже не в обзорах, а в “обзорах обзоров”. Микроэкстракция с применением полимерных таблеток, гранул, порошков, магнитных частиц, дисперсионная микроэкстракция, однокапельная, в том числе в режиме затвердевания и всплывания микрокапли при понижении температуры, различные варианты мембранной и электромембранной микроэкстракции, микроэкстракция в полом капилляре – процедуры, достаточно равноценно представленные в литературе. С одной стороны, они не являются новыми, а с другой, пока не нашли широкого применения в рутинном потоковом анализе. Относительно новым и многообещающим подходом представляется применение растворителей с “переключаемой” гидрофобностью [93]. Путем добавления углекислого газа растворитель протонируется, превращается в гидрокарбонат и становится смешиваемым с водой, а после удаления углекислого газа нагреванием или пропуском инертного газа растворитель отделяется от воды. В основе процесса лежит кислотно-основная реакция. В качестве растворителей с переключаемой полярностью используют амидины, вторичные и третичные амины [94] и диамины [95].

Если процедура биомониторинга требует количественного анализа, а определяемые вещества заранее известны, то при определении биомаркеров отравляющих веществ, допинговых субстанций, психоактивных веществ основными задачами являются обнаружение и доказательная идентификация биомаркеров, однозначно указывающих на факт поступления в организм контролируемого вещества. Конечным этапом аналитического процесса является подтверждающий анализ с использованием образца сравнения. При этом начальный этап, заключающийся в обнаружении микроколичеств искомым биомаркеров в сложной смеси макрокомпонентов биоматрицы, является наиболее сложным. Оценка неопределенности такого анализа, несмотря на большое количество регулирующих документов, не может быть выполнена в рамках универсального подхода [96]. Новые наркотические средства поступают в незаконный оборот столь стремительно, что процеду-

ры обнаружения биомаркеров и установления их безусловной принадлежности к определенной группе запрещенных веществ требуют разработки новых подходов, позволяющих повышать эффективность работы лабораторий именно на этапе обнаружения аналитов, которые далее будут или не будут отнесены к целевым биомаркерам [97]. Как отмечено в работе [98], непрерывно расширяющийся перечень подконтрольных соединений обуславливает преобладание обзорного направления в химико-токсикологическом анализе. Авторы сформулировали 17 ограничений метода ВЭЖХ–МС/МС в обзорном анализе. По-видимому, в ближайшей перспективе эти ограничения не будут полностью преодолены. В частности, невысокая скорость сканирования, загрязненность масс-спектра компонентами подвижной фазы, недостаточная эффективность хроматографического разделения и другие сложности технического плана будут преодолены за счет конкуренции фирм, разрабатывающих и выпускающих ВЭЖХ–МС/МС-системы. В то же время наличие различных конструктивных решений для масс-спектрометрического процесса у различных фирм препятствует его унификации, что представляется одним из главных ограничений возможностей обзорного ВЭЖХ–МС/МС-анализа. Библиотеки справочных масс-спектров создаются как приложение к определенным маркам приборов. При значительном разнообразии приемов ГХ–МС-анализа существует классический подход к его выполнению в режиме сканирования по полному ионному току (ионизация электронами с энергией 70 эВ) и хроматографическому разделению с определением линейных индексов удерживания для слабополярной неподвижной фазы (5%-фенил)-метилполисилоксан в режиме программирования температуры. Базы идентификационных характеристик для ГХ–МС-анализа оперативно пополняются и успешно применяются независимо от типа используемого оборудования. Если в скрининговой процедуре соединение не выявлено, то оно либо вообще не может быть обнаружено в данных экспериментальных условиях, либо потеряно при подготовке к анализу, либо отсутствует в библиотеке, либо библиотечный масс-спектр существенно отличается от полученного экспериментально. Последнее обстоятельство существенно для ВЭЖХ–МС/МС-анализа из-за высокой вариабельности масс-спектров, полученных на разных приборах, и отсутствия межлабораторного соглашения о стандартных условиях анализа. Ввиду этих причин лаборатории пока еще предпочитают ориентироваться на “домашние” библиотеки.

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ В БОРЬБЕ С КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Биоаналитическая масс-спектрометрия доказала свою способность оперативно отвечать на вызовы глобальных угроз, что подтверждается рядом оригинальных идей в области противодействия пандемии коронавируса. В основу разрабатываемых технологий были положены хорошо себя зарекомендовавшие способы разделения и структурной идентификации белков. Варианты протеомных технологий, различающиеся по способам осуществления и комбинирования высокопроизводительных методов разделения белков, их масс-спектрометрического описания и обработки массивов экспериментальных данных, рассмотрены в работе [99]. Больше всего усилий было направлено на разработку новых методов диагностики коронавирусных инфекций. В частности, в качестве альтернативы классическим тестам, основанным на полимеразной цепной реакции (ПЦР), предложен [100] тест с применением МАЛДИ-масс-спектрометрии. При разработке метода важно было не только стандартизовать условия получения масс-спектров, но и предложить приемлемый способ обработки данных. Оптимальным для обработки масс-спектров оказался метод опорных векторов с радиальным ядром. В итоге удалось добиться 90%-ной достоверности при анализе как положительных, так и отрицательных SARS-CoV-2 образцов.

Классический протеомный анализ при обнаружении и идентификации SARS-CoV-2 в жидкости, полученной после полоскания горла, применен в работе [101]. Предложенная процедура включает следующие стадии: осаждение белков ацетоном, дегликозилирование белков, пепсинолиз, обработку дитиотрейтолом и иодацетамидом, ВЭЖХ–МС/МС-анализ. Первоочередную задачу для дальнейших исследований авторы видят в сокращении продолжительности анализа. Пока на исследование одного образца требуется около трех часов.

Авторы обзора [102] отмечают, что метаболомные и липидомные исследования с применением ультра-ВЭЖХ–МС высокого разрешения являются мощным инструментом для дифференциальной диагностики инфекций и обнаружения неизвестных пока биомаркеров патогенов. Большие надежды связывают с гибридными технологиями, объединяющими ПЦР и масс-спектрометрию. Возможности масс-спектрометрической идентификации вирусных ДНК и РНК ограничены их низкой концентрацией в биоматериале. Эта проблема успешно преодолевается путем их “концентрирования” с применением ПЦР. Диагностические процедуры должны развиваться как в направлении быстрой и надежной идентификации известных вирусов, так и в направлении обнаружения генетических маркеров ранее неиз-

вестных патогенов. Для того чтобы диагностические комплексы были мобильными, необходима миниатюризация масс-спектрометров и обеспечение их стабильной работы в условиях, приближенных к полевым.

Аналитическая масс-спектрометрия имеет перспективы применения в исследованиях, направленных на поиск новых мишеней для действия вакцин против SARS-CoV-2. С помощью сочетанного применения масс-спектрометрии и биоинформатики авторам работы [103] удалось продемонстрировать эффективность предложенного ими алгоритма предсказания механизма реакции определенных Т-клеток на SARS-CoV-2 и формирования Т-клеточного иммунитета.

Возможность обнаруживать и идентифицировать белки, входящие в состав вируса, характеризовать их уникальность, а также предсказывать механизмы формирования клеточного иммунитета открывает перспективы для диагностики вирусных инфекций, блокирования и предупреждения их развития.

* * *

Сочетание обзорного и целевого ГХ–МС-анализа на этапе обнаружения заранее неизвестных аналитов пока сохраняет позицию “золотого сечения”. Стандартизованные условия анализа с применением моноквадрупольных масс-детекторов обеспечивают возможность обращения к обширным и постоянно пополняемым базам данных масс-спектров и индексов удерживания. Метод ВЭЖХ–МСⁿ в режиме ионизации электрораспылением можно уже рассматривать в качестве классического подхода к определению как малых молекул, так и супрамолекулярных комплексов в биообъектах любой сложности. Возможности обзорного ВЭЖХ–МС- и ВЭЖХ–МС/МС-анализов пока ограничены многоцелевым скринингом, при проведении которого формирование перечня аналитов-кандидатов должно предшествовать анализу. Для определения органических соединений с низкой эффективностью ионизации электрораспылением (например, стероидов) ГХ–МС пока остается наиболее рациональным подходом. Медицина и биология ставят перед современным ХМС-анализом мультипараметрические задачи установления биологических эффектов, биологических состояний (статусов) и даже сбора ключевой информации для постановки диагнозов. При этом в основе таких решений по-прежнему остается измерение интенсивностей аналитических сигналов, обусловленных распределением массовых чисел ионов. Масс-спектрометрический процесс неуклонно совершенствуется, но для того, чтобы его результаты имели диагностическую ценность, необходимо разработать подходы к стандартизации результатов ХМС-анализа, в том

числе и обзорного, их интеграции в омиксные технологии и эффективной обработки и интерпретации больших объемов получаемой информации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мильман Б.Л., Журкович И.К. Аналитика и биоаналитика на картах науки // Аналитика. 2013. № 2. С. 34. (Milman B.L., Zhurkovich I.K. Analytics and bioanalytics on maps of science // Analytics. 2013. P. 34.)
2. Рембовский В.Р., Могиленкова Л.А., Радилов А.С., Савельева Е.И., Комбарова М.Ю. Перспективы биомониторинга для оценки здоровья при работах с опасными химическими веществами // Медицина экстремальных ситуаций. 2018. Т. 20. № 3. С. 398. (Rembovsky V.R., Mogilenkova L.A., Radilov A.S., Savelyeva E.I., Kombarova M.Yu. Prospects for biomonitoring for health assessment of employees working with hazardous chemicals // Meditsina ekstremal'nykh situatsiy (Medicine of Extreme Situations) 2018. V. 20. № 3. P. 398.)
3. EU – European Union. DEMOCOPHES – Human Biomonitoring on a European Scale. 2013. <https://ec.europa.eu/environment/life/project> (26.11.2020).
4. UNEP (2013): Guidance on the global monitoring plan for persistent organic pollutants. UNEP/POPS/COP.6/INF/31. www.pops.int (26.11.2020).
5. Амирова З.К., Сперанская О.А. Новые стойкие органические супертоксиканты и их влияние на здоровье человека. М.: Издательство “Москва”, 2016. С. 94.
6. Mørck T.A., Nielsen F., Nielsen J.K.S., Siersma V.D., Grandjean P., Knudsen L.E. PFAS concentrations in plasma samples from Danish school children and their mothers // Chemosphere. 2015. V. 129. P. 203.
7. Needham L.L., Calafat A.M., Barr D.B. Uses and issues of biomonitoring // Int. J. Hyg. Environ. Health. 2007. V. 210. P. 229.
8. Whitehead T.P., Crispo Smith S., Park J.-S., Petreas M.X., Rappaport S.M., Metayer C. Concentrations of persistent organic pollutants in California women's serum and residential dust // Environ. Res. 2015. V. 136, P. 57.
9. Svarcova A., Lankova D., Gramblicka T., Stupak M., Hajsova J., Pulkrabova J. Integration of five groups of POPs into one multi-analyte method for human blood serum analysis: An innovative approach within biomonitoring studies // Sci. Total Environ. 2019. V. 667. P. 701.
10. Русских Я., Некрасова Л., Чернова Е., Никуфоров В., Жаковская З. Определение органических загрязнений, включенных в список ХЕЛКОМ, с помощью хроматомасс-спектрометра LTQ Orbitrap // Аналитика. 2012. Т. 1. № 2. С.24. (Russkikh Y., Nekrasova L., Chernova E., Nikiforov V., Zhakovskaya Z. Determination of organic contaminants from the list of HELCOM using high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometer LTQ orbitrap // Analytics. 2012. V. 1. № 2. P. 24.)
11. Manneje A., Coakley J., Mueller J.F., Harden F., Toms L.-M., Douwes J. Partitioning of persistent organic pollutants (POPs) between human serum and breast milk: A literature review // Chemosphere. 2012. V. 89. № 8. P. 911.
12. Hernik A., Struciński P., Buckley B.T., Góralczyk K., Czaja K., Korcz W., Ludwicki J.K. Relationship between paired cord blood and milk POPs levels as a tool for assessing perinatal exposure, A pilot study // Hum. Ecol. Risk Assess.: Int. J. 2016. V. 22. № 7. P. 1456.
13. Philips E.M., Santos S., Steegers E.A.P., Asimakopoulos A.G., Kannan K., Trasande L., Jaddoe V.W.V. Maternal bisphenol and phthalate urine concentrations and weight gain during pregnancy // Environ. Int. 2020. V. 135. P. e105342.
14. Wirnkor V.A., Ngozi V.E., Ajero C.M., Charity L.K., Ngozi O.S., Ebere E.C., Emeka A.C. Biomonitoring of concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons in blood and urine of children at playgrounds within Owerri, Imo State, Nigeria // Environ. Anal. Health Toxicol. 2019. V. 34. № 4. P. e2019011.
15. Henríquez-Hernández L.A., Ortiz-Andrelluchi A., Álvarez-Pérez J., Acosta-Dacal A., Zumbado M., Martínez-González M.A., Serra-Majem L. Human biomonitoring of persistent organic pollutants in elderly people from the Canary Islands (Spain): A temporal trend analysis from the PREDIMED and PREDIMED-Plus cohorts // Sci. Total Environ. 2021. V. 758. P. 143637.
16. Read R.W. Verification of exposure to chemical warfare agents / Chemical Warfare Toxicology: V. 2: Management of Poisoning / Eds. Worek F., Jenner J., Thiermann H. Royal Society of Chemistry, 2016. P. 179.
17. Lilach Yishai Aviram L.Y., Loewenthal D., Weissberg A., Dagan S. Determination of free G-type nerve agents in blood: in situ derivatization on a dried blood spot (DBS) paper followed by LC–MS/MS analysis // Forensic Toxicol. 2020. V. 38. № 2. P. 327.
18. Корягина Н.Л., Алюшина Т.И., Каракашев Г.В., Савельева Е.И., Хлебникова Н.С., Радилов А.С. Определение фосфонилированного тирозина как маркера экспозиции к фосфорорганическим отравляющим веществам в сухих образцах плазмы крови методом ВЭЖХ–МС/МС высокого разрешения // Масс-спектрометрия. Т. 15. № 3. С. 194. (Koryagina N.L., Aliushina T.I., Karakashev G.V., Savelyeva E.I., Khlebnikova N.S., Radilov A.S. Determination of phosphorylated tyrosine as a marker of exposure to nerve agents in dried blood plasma spots by HPLC–HRMS/MS // Mass-spectrometry. 2018. V. 15. № 3. P. 194)
19. Carlsson H., Tornqvist M. An adductomic approach to identify electrophiles in vivo // Basic Clin. Pharm. Toxicol. 2017. V. 121. P. 44.
20. Kanaly R.A., Hanaoka T., Sugimura H., Toda H., Matsui S., Matsuda T. Development of the adductome approach to detect DNA damage in humans // Antioxid. Redox Signal. 2006. V. 8. P. 993.
21. Golime R., Chandra B., Palit M., Dubey D. K. Adductomics: A promising tool for the verification of chemical warfare agents' exposures in biological samples // Arch. Toxicol. 2019. V. 93. № 6. P. 147.
22. Van der Schans M.J. Laboratory analysis of chemical warfare agents, adducts, and metabolites in biomedical samples / Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents / Ed. Ramesh Gupta, Academic Press, 2020. P. 969.
23. Chang Y.-J., Cooke M.S., Chen Y.-R., Yang S.-F., Li P.-S., Hu C.-W., Chao M.-R. Is high resolution a strict requirement for mass spectrometry-based cellular DNA

- adductomics? // *Chemosphere*. 2021. V. 274. P. 129991.
24. *Nøst T.H., Sandanger T.M., Nieboer E., Odland J.Ø., Breivik K.* The impacts of emission trends of POPs on human concentration dynamics: Lessons learned from a longitudinal study in Norway (1979–2007) // *Int. J. Hyg. Environ. Health*. 2017. V. 220. P. 776.
25. *Vermeulen R., Schymanski E.L., Barabási A.-L., Miller G.W.* The exposome and health: Where chemistry meets biology // *Science*. 2020. V. 367(6476). P. 392.
26. *Jones D.P.* Sequencing the exposome: A call to action // *Toxicol. Reports*. 2016. V. 3. P. 29.
27. *Xue J., Lai Y., Liu C.-W., Ru H.* Towards mass spectrometry-based chemical exposome: Current approaches, challenges, and future directions // *Toxics*. 2019. V. 7. № 3. P. 41.
28. *Andra S.S., Austin C., Patel D., Dolios G., Awawda M., Arora M.* Trends in the application of high-resolution mass spectrometry for human biomonitoring: An analytical primer to studying the environmental chemical space of the human exposome // *Environ. Int.* 2017. V. 100. P. 32.
29. *Савельева Е.И., Корягина Н.Л., Орлова О.И.* Определение аддуктов отравляющих веществ с биомолекулами как биомаркеров экспозиции/эффекта // Медицина экстремальных ситуаций. 2018. Т. 20. № 3. С. 451. (*Savel'yeva E. I., Koryagina N.L., Orlova O.I.* Determination of toxic substances adducts with biomolecules as biomarkers of the exposure/effect // *Medicine of Extreme Situations*. 2018. V. 20. № 3. P. 451.)
30. *Reddy M.C., Vasquez K.M.* Repair of genome destabilizing lesions // *Radiat. Res*. 2005. V. 164. P. 345.
31. *Evans M.D., Dizdaroglu M., Cooke M.S.* Oxidative DNA damage and disease: Induction, repair and significance // *Mutat. Res*. 2004. V. 567. P. 1.
32. *Balbo S., Turesky R.J., Villalta P.W.* DNA adductomics // *Chem. Res. Toxicol.* 2014. V. 27. P. 356.
33. *O'Connor M.J.* Targeting the DNA damage response in cancer // *Mol. Cell*. 2015. V. 60. P. 547.
34. *Yin J., Zhang N., Wang H.* Liquid chromatography - mass spectrometry for analysis of DNA damages induced by environmental exposure // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 120. P. 115645.
35. *Орлова О.И., Каракашев Г.В., Шмурак В.И., Абзиянидзе В.В., Савельева Е.И.* Определение N7-[2-[(2-гидроксиэтил)-тио]-этил]-гуанина в моче крыс как маркера воздействия сернистого иприта // Вестник СПбГУ. Физика и химия. 2017. Т. 4(62). № 3. С. 313. (*Orlova O.I., Karakashev G.V., Shmurak V.I., Abzianidze V.V., Savelieva E.I.* Determination of N7-[2-[(2-hydroxyethyl)thio]-ethyl]guanine in rat's urine as biomarker of exposure of sulfur mustard // *Vestnik SPbSU. Physics and Chemistry*. 2017. V. 4(62). № 3. P. 313.)
36. *Cooke M.S., Hu C.-W., Chang Y.-J., Chao M.-R.* Urinary DNA adductomics – A novel approach for exposomics // *Environ. Int.* 2018. V. 121. P. 1033.
37. *Yu Y., Wang P., Cui Y., Wang Y.* Chemical analysis of DNA damage // *Anal. Chem.* 2018. V. 90. P. 556e576.
38. *Murakami H., Horiba R., Iwata T., Miki Y., Uno B., Sakai T., Kaneko K., Ishihama Y., Teshima N., Esaka Y.* Progress in a selective method for the determination of the acetaldehyde derived DNA adducts by using HILIC–ESIMS/MS // *Talanta*. 2018. V. 177. P. 12e17.
39. *Yin R., Liu S., Zhao C., Lu M., Tang M., Wang H.* An ammonium bicarbonate enhanced stable isotope dilution UHPLC-MS/MS method for sensitive and accurate quantification of acrolein-DNA adducts in human leukocytes // *Anal. Chem.* 2013. V. 85. P. 3190e3197.
40. *Zhang N., Song Y., Wu D., Xu T., Lu M., Zhang W., Wang H.* Detection of 1,N2-propano-20-deoxyguanosine adducts in genomic DNA by ultrahigh performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry in combination with stable isotope dilution // *J. Chromatogr. A*. 2016. V. 1450. P. 38e44.
41. *Орлова О.И., Савельева Е.И., Каракашев Г.В.* Методы определения аддуктов сернистого иприта с ДНК // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72. № 3. С. 209. (*Orlova O.I., Savel'yeva E.I., Karakashev G.V.* Methods of determination of sulfur yperite–DNA adducts // *J. Anal. Chem.* 2017. V. 72. P. 256.)
42. *Kanaly R.A., Hanaoka T., Sugimura H., Toda H., Matsui S., Matsuda T.* Development of the adductome approach to detect DNA damage in humans // *Antioxid. Redox Signal*. 2006. V. 8. P. 993.
43. *Chang Y.J., Cooke M.S., Hu C.W., Chao M.R.* Novel approach to integrated DNA adductomics for the assessment of in vitro and in vivo environmental exposures // *Arch. Toxicol.* 2018. V. 92. № 8. P. 2665.
44. *Sans M., Krieger A., Wygant B.R., Garza K.Y., Mullins C.B., Eberlin L.S.* Spatially controlled molecular analysis of biological samples using nanodroplet arrays and direct droplet aspiration // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2020. V. 31. № 2. P. 418.
45. *Kempa E.E., Hollywood K.A., Smith C.A., Barran P.E.* High throughput screening of complex biological samples with mass spectrometry – from bulk measurements to single cell analysis // *The Analyst*. 2019. V. 144. № 3. P. 872.
46. *Рыбальченко И.В., Байгильдиев Т.М., Родин И.А.* Хромато-масс-спектрометрические методы определения маркеров и биомаркеров отравляющих веществ // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 1. С. 32.
47. *Biomarkers definitions working group.* Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework // *Clin. Pharmacol. Ther.* 2001. V. 69. № 3. P. 89.
48. *Мильман Б., Журкович И.* Масс-спектрометрический анализ медицинских объектов и проблемы клинической диагностики // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70. № 10. С. 1026. (*Milman B.L., Zhurkovich I.K.* Mass spectrometric analysis of medical samples and aspects of clinical diagnostics // *J. Anal. Chem.* 2015. V. 70. P. 1179.)
49. *Ma S., Guo Q., Zhang Z., He Z., Yue A., Song Z., Sun R.* Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry in newborns from Xinxiang city in China // *J. Clin. Labor. Anal.* 2020. V. 34. № 5. e23159.
50. *Shi S., Yi L., Yun Y., Zhang X., Liang Y.* A combination of GC–MS and chemometrics reveals metabolic differences between serum and plasma // *Anal. Methods*. 2015. V. 7. № 5. P. 1751.
51. *Pohjanen E., Thysell E., Jonsson P., Eklund C., Silfver A., Carlsson I.-B., Antti H.* A multivariate screening strategy for investigating metabolic effects of strenuous

- physical exercise in human serum // *J. Proteome Res.* 2007. V. 6. № 6. P. 2113.
52. Kell D.B., Brown M., Davey H.M., Dunn W.B., Spasic I., Oliver S.G. Metabolic footprinting and systems biology: the medium is the message // *Nat. Rev. Microbiol.* 2005. V. 3. P. 557.
 53. Armstrong C.W., McGregor N.R., Sheedy J.R., Butfield I., Butt H.L., Gooley P.R. NMR metabolic profiling of serum identifies amino acid disturbances in chronic fatigue syndrome // *Clin. Chim. Acta.* 2012. V. 413. № 19–20. P. 1525.
 54. Armstrong C.W., McGregor N.R., Lewis D.P., Butt H.L., Gooley P.R. Metabolic profiling reveals anomalous energy metabolism and oxidative stress pathways in chronic fatigue syndrome patients // *Metabolomics.* 2015. V. 11. P. 1626.
 55. Casado B., Zanone C., Annovazzi L., Iadarola P., Whalen G., Baraniuk J.N. Urinary electrophoretic profiles from chronic fatigue syndrome and chronic fatigue syndrome/fibromyalgia patients: A pilot study for achieving their normalization // *J. Chromatogr. B.* 2005. V. 814. № 1. P. 43.
 56. Kamrath C., Hartmann M.F., Boettcher C., Zimmer K.-P., Wudy S.A. Diagnosis of 21-hydroxylase deficiency by urinary metabolite ratios using gas chromatography–mass spectrometry analysis: Reference values for neonates and infants // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2016. V. 156. P. 10.
 57. Al-Khelaiji F., Diboun I., Donati F., Botrè F., Alsayrafi M., Georgakopoulos C., Elrayess M.A. A pilot study comparing the metabolic profiles of elite-level athletes from different sporting disciplines // *Sports Medicine – Open.* 2018. V. 4. Article number 2.
 58. Bongiovanni T., Pintus R., Dessì A., Noto A., Sardo S., Finco G., Corsello G., Fanos V. Sportomics: metabolomics applied to sports. The new revolution? // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2019. V. 23. P. 11011.
 59. Yan B., A. J., Wang G., Lu H., Huang X., Liu Y., Zha W., Hao H., Zhang Y., Liu L., Gu S., Huang Q., Zheng Y., Sun J. Metabolomic investigation into variation of endogenous metabolites in professional athletes subject to strength–endurance training // *J. Appl. Physiol.* 2009. V. 106. P. 531.
 60. Lehmann R., Zhao X., Weige C., Simon P., Fehrenbach E., Fritsche J., Machann J., Schick F., Wang J., Hoene M., Schleicher E.D., Häring H.U., Xu G., Niess A.M. Medium chain acylcarnitines dominate the metabolite pattern in humans under moderate intensity exercise and support lipid oxidation // *PLoS One.* 2010. V. 5. P. e11519.
 61. Lewis G.D., Farrell L., Wood M.J., Martinovic M., Arany Z., Rowe G.C., Souza A., Cheng S., McCabe E.L., Yang E., Shi X., Deo R., Roth F.P., Asnani A., Rhee E.P., Systrom D.M., Semigran M.J., Vasan R.S., Carr S.A., Wang T.J., Sabatine M.S., Clish C.B., Gerszten R.E. Metabolic signatures of exercise in human plasma // *Sci. Transl. Med.* 2010. V. 2. № 33. P. 33.
 62. Ciborowski M., Javier Rupérez F., Matínez-Alcázar M.P., Angulo S., Radziwon P., Olszanski R., Kloczko J., Barbas C. Metabolomic approach with LC–MS reveals significant effect of pressure on diver’s plasma // *J. Proteome Res.* 2010. V. 9. P. 4131.
 63. Zauber H., Mosler S., von Hessbe A., Schulze W.X. Dynamics of salivary proteins and metabolites during extreme endurance sports – A case study // *Proteomics.* 2012. V. 12. P. 2221.
 64. Niem D.C., Scherr J., Luo B., Meaney M.P., Dréau D., Sha W., Dew D.A., Henson D.A., Papp K.L. Influence of pistachios on performance and exercise-induced inflammation, oxidative stress, immune dysfunction, and metabolite shifts in cyclists: A randomized, crossover trial // *PLoS One.* 2014. V. 9. P. e113725.
 65. Peake J.M., Tan S.J., Markworth J.F., Broadbent J.A., Skinner T.L., Cameron-Smith D. Metabolic and hormonal responses to isoenergetic high-intensity interval exercise and continuous moderate-intensity exercise // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2014. V. 307. P. E539.
 66. Lou B.S., Wu P.S., Liu Y., Wang J.S. Effects of acute systematic hypoxia on human urinary metabolites using LC–MS-based metabolomics // *High Alt. Med. Biol.* 2014. V. 15. P. 192.
 67. Wang F., Han J., He Q., Geng Z., Deng Z., Qiao D. Applying (1)H NMR spectroscopy to detect changes in the urinary metabolite levels of chinese halfpipe snowboarders after different exercises // *J. Anal. Methods Chem.* 2015. P. 1.
 68. Daskalaki E., Blackburn G., Kalna G., Zhang T., Anthony N., Watson D.G. A study of the effects of exercise on the urinary metabolome using normalization to individual metabolic output // *Metabolites.* 2015. V. 5. P. 119.
 69. Karl J.P., Margolis L.M., Murphy N.E., Carrigan C.T., Castellani J.W., Madslie E.H., Teien H.K., Martini S., Montain S.J., Pasiakos S.M. Military training elicits marked increases in plasma metabolomic signatures of energy metabolism, lipolysis, fatty acid oxidation, and etogenesis // *Physiol. Rep.* 2017. V. 5. P. e13407.
 70. Nieman D.C., Mittlester S.H. Potential impact of nutrition on immune system recovery from heavy exertion: A metabolomics perspective // *Nutrients.* 2017. V. 9. P. E513.
 71. Талибова А., Токарев М., Рыжов М. Олимпийский спорт: методы борьбы с допингом // *Аналитика.* 2014. Т. 2. С. 30. (Talibova A., Tokarev M., Ryzov M. Olympic sports: Methods of doping control // *Analytics.* 2014. V. 2. P. 30.)
 72. Обухова Е.Н., Буряк А.К. Хромато–масс–спектрометрическое определение изомеров в допинговом контроле // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 74. № 9. С. 652. (Obukhova E.N., Buryak A.K. Determination of isomers in doping control by chromatography–mass spectrometry // *J. Anal. Chem.* 2019. V. 74. № 9. P. 847.)
 73. Schänzer W., Thevis M. Human sports drug testing by mass spectrometry // *Mass Spectrom. Rev.* 2017. V. 36. P. 16.
 74. Botrè F., Georgakopoulos C., Elrayess M.A. Metabolomics and doping analysis: Promises and pitfalls // *Bioanalysis.* 2020. V. 12. № 11. P. 719.
 75. Handelsman D.J. Performance Enhancing Hormone Doping in Sport [Updated 2020 Feb 29] / Eds. Feingold K.R., Anawalt B., Boyce A. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc., 2000. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305894> (28.02.2021).
 76. Kuuranne T., Kurkela M., Thevis M., Schanzer W., Finel M., Kostianinen R. Glucuronidation of anabolic androgenic steroids by recombinant human UDP-glucuronosyltransferases // *Drug Metab. Dispos.* 2003. V. 31. P. 1117.

77. Measurement and Reporting of Endogenous Anabolic Androgenic Steroid (EAAS) Markers of the Urinary Steroid Profile. WADA Technical Document – TD2021EAAS. December 2020. <https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources> (26.02.2021).
78. Kuuranne T., Saugy M., Baume N. Confounding factors and genetic polymorphism in the evaluation of individual steroid profiling // *Br. J. Sports Med.* 2014. V. 48. P. 848.
79. de la Torre X., Jardines D., Curcio D., Colamonici C., Botrè F. Isotope ratio mass spectrometry in antidoping analysis: The use of endogenous reference compounds // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2019. V. 30. № 33(6). P. 579.
80. Sottas P.E., Saugy M., Saudan C. Endogenous steroid profiling in the athlete biological passport // *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 2010. V. 39. P. 59 viii.
81. Schulze J.J., Lundmark J., Garle M., Skilving I., Ekström L., Rane A. Doping test results dependent on genotype of uridinediphospho-glucuronosyltransferase 2B17, the major enzyme for testosterone glucuronidation // *Clin. Endocrinol. Metab.* 2008. V. 93. P. 2500.
82. Anizan S., Huestis M.A. The potential role of oral fluid in antidoping testing // *Clin. Chem.* 2014. V. 60. № 2. P. 307.
83. Никитин Е.В., Григорьев А.М., Грибкова С.Е., Крупина Н.А., Калашиков В.А., Родин И.А. Хромато-масс-спектрометрические характеристики новых дизайнерских катинонов, а также их метаболитов, полученных с помощью *in vivo* и *in vitro* методов // *Масс-спектрометрия.* 2020. Т. 17. № 2. С. 112.
84. Уколов А.И., Сорокоумов П.Н., Уколова Е.С., Савельева Е.И., Радилов А.С. Определение дихлофоса, диметоата, хлорпирифоса, фозалона, диазинона и метилпаратиона в крови и моче методом газовой хроматографии с тандемным масс-селективным детектированием // *Аналитика и контроль.* 2014. Т. 18. №3. С. 280. (Ukolov A.I., Sorokoumov P.N., Ukolov E.S., Savel'eva E.I., Radilov A.S. GC-MS/MS quantification of chlorophos, dimethoate, chloropyrifos, fosalon, diazinon and methylparathion // *Analitika i Kontrol.* 2014. V. 18. № 3. P. 280.)
85. Vermeulen R., Schymanski E.L., Barabási A.-L., Miller G.W. The exposome and health: Where chemistry meets biology // *Science.* 2020. V. 367. № 6476. P. 392.
86. Куценко С.А. Основы токсикологии. Санкт-Петербург, 2002. Т. 4. С. 119. <http://www.medline.ru/public/monografy/toxicology> (01.03.2021).
87. Bouatra S., Aziat F., Mandal R., Guo A.C., Wilson M.R., Knox C., Bjorn Dahl T.C., Krishnamurthy R., Saleem F., Liu P., Dame Z.T., Poelzer J., Huynh J., Yallou F.S., Psychogios N., Dong E., Bogumil R., Roehring C., Wishart D.S. The human urine metabolome // *PLoS One.* 2013. V. 8. P. 0073076.
88. Sweetman L. Organic acids in man: the analytical chemistry, biochemistry and diagnosis of the organic acidurias // *Anal. Biochem.* 1982. V. 127. P. 458.
89. Jansen G., Muskiet F.A., Schierbeek H., Berger R., van der Slik W. Capillary gas chromatographic profiling of urinary, plasma and erythrocyte sugars and polyols as their trimethylsilyl derivatives, preceded by a simple and rapid prepurification method // *Clin. Chim. Acta.* 1986. V. 157. P. 277.
90. Корягина Н.Л., Савельева Е.И., Хлебникова Н.С., Уколов А.И., Уколова Е.С., Каракашев Г.В., Радилов А.С. Хроматомасс-спектрометрическое определение алкилметилфосфоновых кислот в моче // *Масс-спектрометрия.* 2015. Т. 12. № 4. С. 236.
91. Rutkowska M., Płotka-Wasyłka J., Sajid M., Andruch V. Liquid-phase microextraction: A review of reviews // *Microchem. J.* 2019. V. 149. P. 1.
92. Jalili V., Barkhordari A., Ghiasvand A. A comprehensive look at solid-phase microextraction technique: A review of reviews // *Microchem. J.* 2020. V. 152. P. 1.
93. Luiz Oenning, A., Birk, L., Eller, S., Franco de Oliveira, T., Merib, J., Carasek, E. A green and low-cost method employing switchable hydrophilicity solvent for the simultaneous determination of antidepressants in human urine by gas chromatography–mass spectrometry detection // *J. Chromatogr. B.* 2020. V. 1143. P. 122069.
94. Jessop P.G., Kozycz L., Rahami Z.G., Schoenmakers D., Boyd A.R., Wechsler D., Holland A.M. Tertiary amine solvents having switchable hydrophilicity // *Green Chem.* 2011. V. 13. P. 619.
95. Vanderveen J.R., Geng J., Zhang S., Jessop P.G. Diamines as switchable-hydrophilicity solvents with improved phase behavior // *RSC Adv.* 2018. V. 8. P. 27318.
96. Jackson G.P. Error terror in forensic science: When spectroscopy meets the courts // *Spectroscopy.* 2016. V. 31. № 11. P. 2.
97. Темердашев А.З., Григорьев А.М., Рыбальченко И.В. Эволюция новых наркотических средств и методы их определения // *Журн. аналит. химии.* 2014. Т. 69. № 9. С. 899. (Temerdashev A.Z., Grigor'ev A.M., Rybal'chenko I.V. Evolution of new narcotic substances and methods of their determination // *J. Anal. Chem.* 2014. V. 69. № 9. P. 817.)
98. Григорьев А. М., Реброва С. Г., Крупина Н. А. Скрининговые процедуры при анализе объектов биологического происхождения методом жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии: возможные затруднения // *Наркология.* 2016. № 10. С. 88.
99. Rana R., Rathi V., Ganguly N.K. A comprehensive overview of proteomics approach for COVID-19: New perspectives in target therapy strategies // *J. Proteins Proteom.* 2020. V. 11. № 4. P. 223.
100. Nachtigall F.M., Pereira A., Trofymchuk O.S., Santos L.S. Author correction: Detection of SARS-CoV-2 in nasal swabs using MALDI-MS // *Nature Biotechnol.* 2020. V. 38. № 10. P. 1211.
101. Ihling C., Tänzler D., Hagemann S., Kehlen A., Hüttelmaier S., Arlt C., Sinz A. Mass Spectrometric identification of SARS-CoV-2 proteins from gargle solution samples of COVID-19 patients // *J. Proteome Res.* 2020. V. 19. № 11. P. 4389.
102. Mahmud I., Garrett T.J. Mass spectrometry techniques in emerging pathogens studies: COVID-19 perspectives // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2020. V. 31. № 10. P. 2013.
103. Poran A., Harjanto D., Malloy M., Arieta C.M., Rothenberg D.A., Lenkala D., Gaynor R.B. Sequence-based prediction of SARS-CoV-2 vaccine targets using a mass spectrometry-based bioinformatics predictor identifies immunogenic T cell epitopes // *Genome Med.* 2020. V. 12. № 1. Abstract P.S03-02.

УДК 577.182.54:543.068.8:543.426:543.062

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СМАРТФОНА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТЕТРАЦИКЛИНОВ В ВОДЕ И МОЛОКЕ ПО СЕНСИБИЛИЗИРОВАННОЙ ТВЕРДОФАЗНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ЕВРОПИЯ НА ЕГО ГИДРОКСИДЕ

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

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

^бФедеральный центр охраны здоровья животных мкр. Юрьево, Владимир, 600901 Россия

*e-mail: amelinvg@mail.ru

Поступила в редакцию 09.03.2021 г.

После доработки 18.03.2021 г.

Принята к публикации 18.03.2021 г.

Изучена возможность определения антибактериальных препаратов тетрациклинового ряда (тетрацилин, доксицилин, окситетрацилин, демеклоцилин, метацилин и хлортетрацилин) в сточных, природных водах и молоке с использованием цифровой цветометрии (смартфона) по сенсibilизированной флуоресценции европия на его гидроксиде. Установлено, что европий(III) образует комплексы с тетрациклинами в щелочной среде и при образовании осадка гидроксида европия его флуоресцентные свойства не изменяются. Цветометрические параметры осадка после его центрифугирования измеряли с помощью смартфона. Пределы обнаружения и определения составили 0.001–0.004 и 0.005–0.01 мкг/мл соответственно для всех рассматриваемых аналитов. Диапазоны определяемых содержаний 0.005 (0.08)–0.1 (1) мкг/мл. Градуировочные зависимости линейны, $R^2 \geq 0.98$. Предложена методика определения суммарного содержания тетрациклинов в сточных, природных водах и молоке. Продолжительность анализа 20–30 мин, относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышает 0.20.

Ключевые слова: тетрациклины, цифровая цветометрия, сенсibilизированная флуоресценция, смартфон, вода, молоко.

DOI: 10.31857/S0044450221080028

Среди многообразия лекарственных средств антибиотики тетрациклиновой группы уже более полувека используют как препараты широкого спектра действия, в основе антибактериального действия которых лежит подавление синтеза белка. Для данной группы соединений характерно наличие четырехчленного нафтаценового ядра (схема 1).

Широкое использование тетрациклинов в ветеринарии приводит к появлению их в продуктах питания (мясо, молоко, рыба) и объектах окружающей среды. В водные объекты тетрациклины попадают со стоками животноводческих ферм, птицефабрик и фармацевтических предприятий. Внесение органических удобрений (навоза) на сельскохозяйственные поля приводит к загрязнению почвы и соответственно сельскохозяйственной продукции. Присутствие остаточных количеств тетрациклинов в воде и почве негативно воздействует на экологический баланс окружающей среды, вызывая устойчивость водных и поч-

венных микроорганизмов к антибиотикам. Употребление в пищу продуктов, содержащих остатки тетрациклинов, негативно сказывается и на здоровье человека.

В объектах окружающей среды тетрациклины, наряду с другими загрязнителями, чаще всего определяют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, в основном с масс-спектрометрическим детектированием [1, 2]. Определению предшествует этап пробоподготовки с концентрированием тетрациклинов, обычно с использованием метода твердофазной экстракции (ТФЭ). В работе [3] предложено применять сверхсшитый полистирол для ТФЭ тетрациклинов. Разработана методика определения тетрациклинов в водах в диапазоне 0.002–0.1 мкг/мл при концентрировании из 100 мл водного раствора методом ВЭЖХ с амперометрическим детектированием.

Для определения тетрациклинов в различных объектах получили развитие флуориметрические

методы анализа. Молекулы тетрациклинов имеют плоское строение (схема 1), они способны флуоресцировать при облучении УФ-светом. Кроме того, тетрациклины образуют комплексы с

ионами металлов, в частности с европием(III) и тербием(III). В последнем случае это приводит к сенсibilизированной тетрациклинами флуоресценции ионов европия и тербия [4–7].

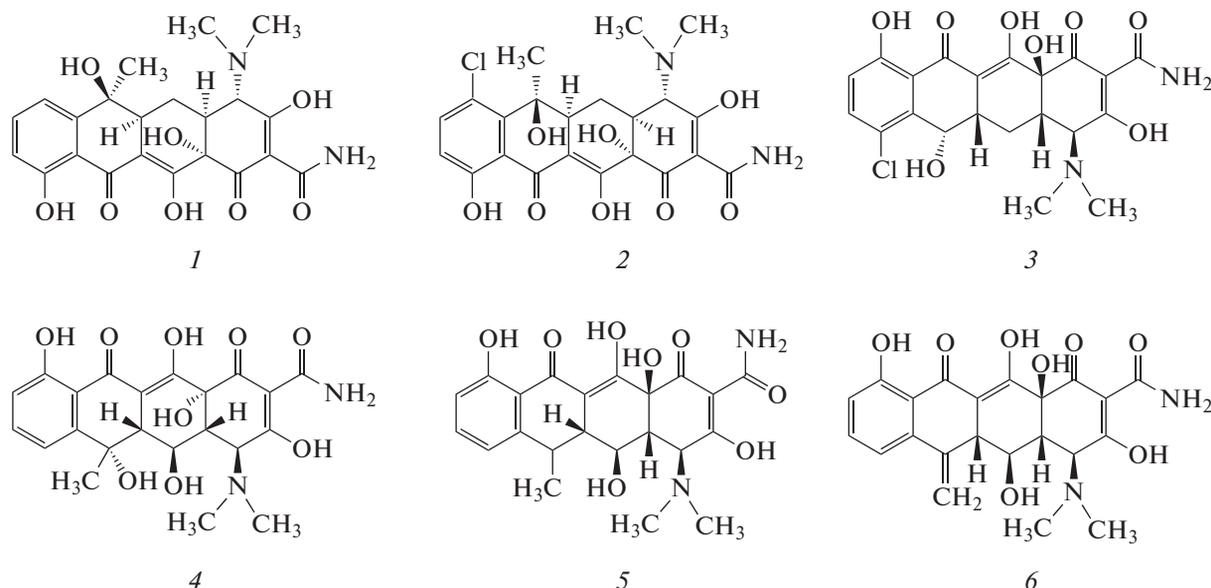


Схема 1. Структурные формулы тетрациклина (1), хлортетрациклина (2), демеклоциклина (3), окситетрациклина (4), доксициклина (5), метациклина (6).

Исследовано образование смешанолигандных комплексов европия(III) на поверхности химически модифицированного кремнезема с привитой группой иминодиуксусной кислоты и тетрациклином. Изученный комплекс предложен для люминесцентного определения тетрациклина в растворах. Минимальная определяемая концентрация при извлечении из 10 мл раствора составила 0.5 мкг/мл [8].

В работе [9] тетрациклин определяли в природной воде, молоке и мёде по сенсibilизированной флуоресценции европия на лапоните в присутствии лимонной кислоты в диапазоне 30 нМ–54 мкМ. Предложена индикаторная бумага для определения тетрациклина в молоке в диапазоне 1–100 мкМ при регистрации аналитического сигнала с помощью смартфона.

Предложена методика определения окситетрациклина в мышцах рыбы по сенсibilизированной флуоресценции европия в диапазоне 10–1000 нг/г с пределом обнаружения 3 нг/г [10]. Определение проводили в присутствии хлорида цетилтриметиламмония и ЭДТА в качестве второго лиганда в комплексе европия, что повышало чувствительность определения.

В работе [11] предложено измерять фосфоресценцию хелата европия при комнатной температуре для непосредственного скрининга тетрациклинов (тетрациклин, окситетрациклин, хлортет-

рациклин и доксициклин) в воде и коровьем молоке. Диапазоны определяемых содержаний тетрациклинов составили 0.2–11.6 пМ для воды и 165–238 пМ для молока.

Предложено определение тетрациклинов в молоке по сенсibilизированной флуоресценции европия на наноплатформе двойного гидроксида магния и алюминия [12]. Диапазон определяемых содержаний тетрациклинов составил 0.1–5.0 мкМ (0.04–2 мкг/мл), предел обнаружения – 7.6 нМ. На наноплатформе дисульфида молибдена предложена чувствительная и селективная методика определения тетрациклинов. Диапазон определяемых содержаний составил 0.1–50 мкМ с пределом обнаружения 0.032 мкМ [13].

Дисперсионную жидкостно-жидкостную микроэкстракцию дихлорметаном применили для извлечения окситетрациклина из мышц рыбы и последующего его определения по сенсibilизированной флуоресценции европия [14]. Диапазон определяемых содержаний составил 0.04–4 мкг/г.

Рассмотренные выше работы объединяет использование для определения тетрациклинов дорогостоящего оборудования (хромато-масс-спектрометров, хроматографов и спектрофлуориметров), что в свою очередь накладывает определенные ограничения на внедрение экспрессных методик в практику аналитических лабораторий, проводящих рутинные мониторинговые исследования.

Перспективным направлением для решения подобных задач является применение цифровой цветометрии, которая сочетает доступность визуально-цветометрических тест-систем и хорошие метрологические характеристики инструментальных средств измерения [15]. Отличительной особенностью метода является простота аппаратного оформления, возможность использования в качестве цветорегистрирующих устройств цифровой фото-, видео- и оптической офисной техники. Миниатюризации метода и повышению его мобильности способствует разработка современных смартфонов и специализированного программного обеспечения [16, 17]. Проведение специфических реакций получения флуоресцирующих производных обеспечивает избирательность и высокую чувствительность цифровой цветометрии, что делает ее конкурентоспособной по сравнению с другими традиционными методами.

Цель данной работы – изучение возможности определения антибактериальных препаратов тетрациклинового ряда в сточных, природных водах и молоке по сенсibilизированной флуоресценции европия на его гидроксиде с использованием смартфона в качестве цветорегистрирующего устройства.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Аппаратура. Для изучения оптических и цветометрических характеристик в качестве цветорегистрирующего устройства использовали смартфон iPhone X (Apple, США), оснащенный специализированным программным обеспечением RGBer. Возбуждение флуоресценции проводили с помощью источника монохроматического излучения Jialite F114 5W 365NM UV (Shenzhen Jialite Technology Co., Китай), детектора банкнот Dors 60 SYS-033278/277 (DORS, Китай) и осветителя люминесцентного диагностического Лампа Вуда ОЛДД-01 (Россия), УФ с длиной волны 365 нм.

Применяли аналитические весы Pioneer PA 214C специального класса точности с пределом взвешивания 0.1 мг (Ohaus Corporation, USA); систему для упаривания растворителей RapidVar N2/48 (LabConco, США); дозаторы Proline Biohit одноканальные механические переменного объема 2–20 мкл, 100–1000 мкл, 1000–5000 мкл (Biohit, Финляндия); пробирки полипропиленовые емк. 15 мл (SPL Life Sciences Co., Корея); пробирки типа “Эппендорф” емк. 2.0 мл (GenFollower Biotech Co., Китай); политетрафторэтиленовые мембранные фильтры 25 мм с диаметром пор 0.20 мкм (Pall Corporation, США). Использовали центрифуги Elmi CM-50M (Латвия) и MPW-260R (MPW Med. Instruments, Польша).

Реактивы. Использовали стандартные образцы тетрациклина, доксициклина, окситетрацик-

лина, демеклоциклина, метациклина и хлортетрациклина (98–100%, Sigma-Aldrich, США). Исходные стандартные растворы (1 мг/мл) готовили растворением точной навески препаратов в метаноле. Рабочие растворы готовили разбавлением исходных деионизированной водой (15–18 МОм · см, ОСТ 11 029.003-80).

Применяли метанол (Fisher Scientific UK, Великобритания), соляную кислоту (АО “БСК”, Россия), тетраборат натрия (Sigma-Aldrich, США), гексагидрат хлорида европия(III) $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, США), ацетонитрил (Scharlab S.L., Испания), ЭДТА (этилендиаминтетраацетат натрия) (ХИММЕД, Россия), хлорид натрия (ХИММЕД, Россия).

Построение градуировочной зависимости. В пробирки типа “Эппендорф” емк. 2.0 мл вносили 5, 10, 20, 40, 60, 80 и 100 мкл стандартных растворов тетрациклинов с концентрацией 10 мкг/мл (первая серия) и 1 мкг/мл (вторая серия), добавляли 100 мкл 0.01 М раствора европия(III), 1 мл деионизированной воды, 100 мкл 2%-ного раствора тетрабората натрия. Пробирки закрывали, перемешивали 1–2 мин и центрифугировали в течение 1 мин при 15000 об/мин. Пробирку облучали УФ-светом (365 нм) и с помощью смартфона измеряли цветометрические характеристики розовой флуоресценции. Аналитический сигнал (A_r) в системе RGB рассчитывали по формуле:

$$A_r = \sqrt{(R_0 - R_x)^2 + (G_0 - G_x)^2 + (B_0 - B_x)^2},$$

где $R_0, G_0, B_0, R_x, G_x, B_x$ – цифровые значения интенсивностей красного, зеленого, синего цветов холостой и анализируемой проб соответственно.

Определение тетрациклинов в воде. В пробирки типа “Эппендорф” емк. 2.0 мл вносили 1 мл профильтрованной через мембранный фильтр природной или сточной воды, добавляли 100 мкл стандартного раствора тетрациклина с концентрацией 1 мкг/мл (при использовании метода добавок), 100 мкл 0.01 М раствора европия(III) и 100 мкл 2%-ного раствора тетрабората натрия. Пробирки закрывали, перемешивали 1–2 мин и центрифугировали в течение 1 мин при 15000 об/мин. Пробирку облучали УФ-светом (365 нм) и с помощью смартфона измеряли цветометрические характеристики розовой флуоресценции. Содержание тетрациклинов определяли по градуировочной зависимости. При использовании метода добавок содержание тетрациклинов рассчитывали по формуле: $c_x = c_{\text{доб}} / [(A_{x+\text{доб}}/A_x) - 1]$, где $c_{\text{доб}}$ – концентрация добавки в пробе, мкг/мл; $A_x, A_{x+\text{доб}}$ – аналитические сигналы в исследуемой пробе и в пробе с добавкой аналита (0.1 мкг/мл) соответственно.

Определение тетрациклинов в молоке. В центрифужную пробирку емк. 15 мл вносили 1.00 мл молока, добавляли 2.0 мл ацетонитрила, 0.5 г NaCl,

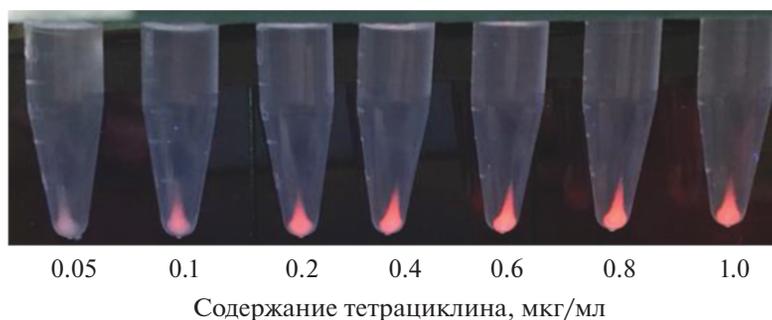


Рис. 1. Фото стандартной шкалы для определения тетрациклина.

40.0 мг ЭДТА и перемешивали в течение 5 мин, центрифугировали в течение 5 мин при 2700 об/мин. Отбирали верхний ацетонитрильный слой во флакон и упаривали досуха при 40°C в токе азота с использованием устройства RapidVar N2/48. К сухому остатку добавляли 50 мкл ацетонитрила и 950 мкл деионизированной воды, перемешивали 5 мин и фильтровали через мембранный фильтр 0.20 мкм в пробирку типа “Эппендорф” емк. 2.0 мл. В полученный раствор вносили 100 мкл 0.01 М раствора европия(III) и 100 мкл 2%-ного раствора тетрабората натрия. Пробирки закрывали, перемешивали 1–2 мин и центрифугировали в течение 1 мин при 15 000 об/мин, облучали УФ-светом (365 нм) и с помощью смартфона измеряли цветометрические характеристики розовой флуоресценции. Содержание тетрациклинов определяли по градуировочной зависимости или расчетным способом по методу добавок.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Аналитические характеристики. В данной работе предложено использовать сенсibilизированную флуоресценцию тетрациклинами европия(III) на поверхности его гидроксида, образующегося в результате гидролиза в щелочной среде (добавление раствора тетрабората натрия) избытка его растворимой соли. Центрифугирование осадка позволило сконцентрировать его на дне пробирки (рис. 1). При облучении осадка ультрафиолетовым светом (365 нм) наблюдали розовую флуоресценцию, интенсивность которой измеряли с помощью смартфона. Высокая разрешающая способность современных смартфонов повышает локальность цифрового анализа, позволяя регистрировать базисные компоненты цветометрической системы RGB осадка небольшого объема.

На градуировочных зависимостях для всех тетрациклинов в диапазоне 0.005–1 мкг/мл имеются два линейных участка: в диапазонах 0.005–0.1 и 0.08–1 мкг/мл (табл. 1). Предел обнаружения ($c_{\text{мин}}$) и предел определения ($c_{\text{н}}$) рассчитывали по формулам $3.3s/k$ и $10s/k$ соответственно (s – стан-

дартное отклонение аналитического сигнала для холостого опыта, k – тангенс угла наклона градуировочной зависимости). Стандартное отклонение для A_1 холостого опыта составило 0.50 ($n = 15$). В табл. 1 представлены аналитические характеристики методики определения тетрациклинов по сенсibilизированной флуоресценции европия(III) на его гидроксида с использованием смартфона в качестве цветорегистрирующего устройства. Пределы обнаружения и определения составили 0.001–0.004 и 0.005–0.01 мкг/мл соответственно для всех рассматриваемых аналитов. Диапазоны определяемых содержаний (ДОС) – 0.005 (0.08)–0.1 (1) мкг/мл. Градуировочные зависимости линейны, $R^2 \geq 0.98$ (табл. 1).

В табл. 2 и на рис. 2 показаны пример расчета аналитического сигнала и градуировочная зависимость для определения окситетрациклина соответственно.

Оценка матричного эффекта. Матричный эффект (МЭ) рассчитывали по формуле: $\text{МЭ} (\%) = (C/D - 1) \times 100$, где C , D – значения наклонов градуировочных зависимостей, полученных на основе матрицы и деионизированной воды соответственно. Матричный эффект обусловлен влиянием присутствующих в воде соадсорбируемых на гидроксида европия флуоресцирующих соединений и ионов металлов, способных образовывать с тетрациклинами комплексы. В данных условиях они могут как усиливать (+), так и понижать (–) интенсивность сигнала аналита. Согласно данным [18] МЭ можно пренебречь, когда его значения находятся в диапазоне $\pm 20\%$. Как видно из табл. 1, МЭ для природной воды (вода р. Клязьма в черте г. Владимира) незначителен и не превышает 19%. При исследовании сточной воды птицефабрики обнаруживали значительный матричный эффект (30–40%). Для его нивелирования пробу воды разбавляли в два раза и использовали метод добавок для определения тетрациклинов.

Анализ природных, сточных вод и молока. Правильность и воспроизводимость результатов определения антибиотиков тетрациклинового

Таблица 1. Аналитические характеристики определения тетрациклинов для двух линейных диапазонов определяемых содержаний и матричный эффект при анализе природной воды ($n = 3$, $P = 0.95$)

Аналит	$c_{\text{мин}}$, мкг/мл	$c_{\text{н}}$, мкг/мл	ДОС, мкг/мл	Уравнение градуировочной зависимости	R^2	МЭ, %
Тетрациклин	0.001	0.005	0.005–0.1	$A_r = 1313.7c$	0.9804	17
			0.08–1	$A_r = 62.707c + 19.008$	0.9990	
Доксициклин	0.002	0.007	0.007–0.1	$A_r = 745.76c$	0.9885	–19
			0.1–1	$A_r = 33.863c + 25.967$	0.9969	
Окситетрациклин	0.002	0.007	0.007–0.1	$A_r = 747.8c$	0.9865	4.6
			0.1–1	$A_r = 47.983c + 18.839$	0.9983	
Димеклоциклин	0.002	0.006	0.006–0.1	$A_r = 882.49c$	0.9857	2.9
			0.06–1	$A_r = 80.349c + 14.366$	0.9999	
Хлортетрациклин	0.003	0.01	0.01–0.1	$A_r = 475.03c$	0.9803	–19
			0.08–1	$A_r = 59.912c + 18.133$	0.9929	
Метациклин	0.003	0.009	0.009–0.1	$A_r = 594.35c$	0.9866	–8.1
			0.06–0.6	$A_r = 88.57c + 8.28$	0.9869	

Таблица 2. Цветометрические характеристики хелата окситетрациклина с европием(III)

Концентрация, мкг/мл	Значения цветовых каналов/ то же с вычетом холостой пробы			Аналитический сигнал
	$R_x/R_0 - R_x$	$G_x/G_0 - G_x$	$B_x/B_0 - B_x$	$A_r = \sqrt{(R_0 - R_x)^2 + (G_0 - G_x)^2 + (B_0 - B_x)^2}$
0	121/0	115/0	125/0	–
0.005	126/–5	118/–3	129/–4	7
0.01	132/–11	121/–6	130/–5	13
0.02	136/–15	109/6	133/–8	18
0.04	149/–28	111/4	131/–6	29
0.06	160/–39	121/–6	136/–11	41
0.08	180/–59	104/11	127/–2	60
0.1	196/–75	116/–1	137/–12	76

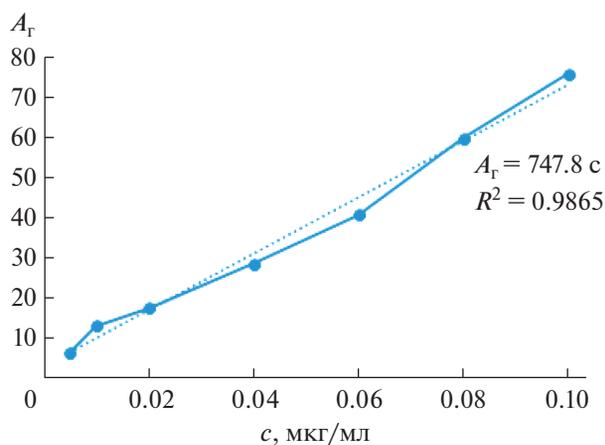
**Рис. 2.** Градуировочная зависимость для определения окситетрациклина.

Таблица 3. Результаты определения тетрациклинов в сточных и природных водах; проверка правильности результатов анализа ($n = 3, P = 0.95$)

Аналит	Введено, мкг/л	Найдено, мкг/л	s_T
Тетрациклин	0	$< c_{\text{мин}}$	–
	5	6 ± 2	0.13
	50	60 ± 9	0.06
	0	$98 \pm 15^*$	0.06
Доксициклин	0	$< c_{\text{мин}}$	–
	10	8 ± 3	0.15
	50	49 ± 9	0.07
Окситетрациклин	0	$< c_{\text{мин}}$	–
	10	11 ± 5	0.18
	50	56 ± 9	0.07
Димеклоциклин	0	$< c_{\text{мин}}$	–
	10	10 ± 4	0.16
	50	56 ± 8	0.07
Хлортетрациклин	0	$< c_{\text{мин}}$	–
	10	8 ± 4	0.20
	50	46 ± 8	0.07
Метациклин	0	$< c_{\text{мин}}$	–
	10	12 ± 3	0.10
	50	56 ± 7	0.07

* Результат анализа сточной воды птицефабрики.

Таблица 4. Результаты определения тетрациклинов в молоке; проверка правильности результатов анализа ($n = 3, P = 0.95$)

Аналит	Введено, мкг/л	Найдено, мкг/л	s_T
Тетрациклин	0	$< c_{\text{мин}}$	–
	10	15 ± 3	0.12
Доксициклин	0	$< c_{\text{мин}}$	–
	10	9 ± 4	0.20
Окситетрациклин	0	$23 \pm 9 (18^*)$	0.16
	10	38 ± 8	0.08
Димеклоциклин	0	$< c_{\text{мин}}$	–
	10	16 ± 8	0.20
Хлортетрациклин	0	$< c_{\text{мин}}$	–
	10	9 ± 4	0.20
Метациклин	0	$< c_{\text{мин}}$	–
	10	11 ± 3	0.11

* Результат анализа пробы молока, в которой обнаружен окситетрациклин методом хромато-масс-спектрометрии [19].

ряда подтверждали методом “введено–найдено” на двух уровнях концентраций при использовании природной воды и на одном при использовании молока. Пробоподготовку для определения тетрациклинов в молоке проводили по методике, описанной в работе [19]. Результаты определения, представленные в табл. 3 и 4, свидетельствуют о правильности и хорошей воспроизводимости методики. Относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышает 0.20.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Hu X., Zhou Q., Luo Yi.* Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables and groundwater from organic vegetable bases, northern China // *Environ. Pollut.* 2010. V. 158. P. 2992.
2. *Kim H., Hong Y., Park J., Sharma V.K., Cho S.* Sulfonamides and tetracyclines in livestock wastewater // *Chemosphere.* 2013. V. 91. P. 888.
3. *Удалова А.Ю., Дмитриенко С.Г., Натчук С.В., Аяри В.В., Золотов Ю.А.* Концентрирование антибиотиков тетрациклиновой группы на сверхсшитом полистироле и их определение в водах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // *Журн. аналит. химии.* 2015. Т. 70. № 3. С. 273.
4. *Georges J.* Lanthanide-sensitized luminescence and applications to the determination of organic analytes. A review // *Analyst.* 1993. V. 118. P. 1481.
5. *Hirschy L.M., Dose E.V., Winefordner J.D.* Lanthanide-sensitized luminescence for the detection of tetracyclines // *Anal. Chim. Acta.* 1983. V. 147. P. 311.
6. *Rodriguez-Diaz R.C., Aguilar-Caballos M.P., Gomez-Hens A.* Simultaneous determination of ciprofloxacin and tetracycline in biological fluids based on dual-lanthanide sensitized luminescence using dry reagent chemical technology // *Anal. Chim. Acta.* 2003. V. 494. P. 55.
7. *Паращенко И.И., Смирнова Т.Д., Штыков С.Н., Кочубей В.И., Жукова Н.Н.* Твердофазная, сенсбилизированная доксициклином, флуоресценция европия на силикагеле в присутствии ПАВ // *Журн. аналит. химии.* 2013. Т. 68. № 2. С. 125.
8. *Тихомирова Т.И., Смирнов В.С., Быстров В.Ю.* Определение тетрациклина по сенсбилизированной люминесценции европия(III), сорбированного на кремнеземе, химически модифицированном группами иминодиуксусной кислоты // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия.* 2008. Т. 49. № 5. С. 344.
9. *Xu J., Guo S., Jia L., Zhu T., Chen X., Zhao T.* A smartphone-integrated method for visual detection of tetracycline // *Chem. Eng.* 2020. Article 127741.
10. *Chen G., Schneider M.J., Darwish A.M., Lehotay S.J., Freeman D.W.* Europium-sensitized luminescence determination of oxytetracycline in catfish muscle // *Talanta.* 2004. V. 64. P. 252.
11. *Li X., Fan K., Yang R., Du X., Qu B., Miao X., Lu L.* A long lifetime ratiometrically luminescent tetracycline nanoprobe based on Ir(III) complex-doped and Eu³⁺-functionalized silicon nanoparticles // *J. Hazard. Mater.* 2020. V. 386. Article 121929.

12. *Traviesa-Alvarez J.M., Costa-Fernandez J.M., Pereiro R., Sanz-Medel A.* Direct screening of tetracyclines in water and bovine milk using room temperature phosphorescence detection // *Anal. Chim. Acta.* 2007. V. 589. P. 51.
13. *Zhou Z., Li X., Gao J., Tang Y., Wang Q.* Tetracycline generated red luminescence based on a novel lanthanide functionalized layered double hydroxide nano-platform // *J. Agric. Food Chem.* 2019. V. 67. P. 3871.
14. *Jia P., Bu T., Sun X., Liu Y., Liu J., Wang Q., Shui Y., Guo S., Wang L.* A sensitive and selective approach for detection of tetracyclines using fluorescent molybdenum disulfide nanoplates // *Food Chem.* 2019. V. 297. P. 124969.
15. *Моногарова О.В., Осолок К.В., Аняри В.В.* Цветометрия в химическом анализе // *Журн. аналит. химии.* 2018. Т. 73. № 11. С. 857.
16. *Lima M.J.A., Nascimento C.F., Rocha F.R.P.* Feasible photometric measurements in liquid-liquid extraction by exploiting smartphone-based digital images // *Anal. Methods.* 2017. V. 9. № 14. P. 2220.
17. *Acevedo M.S. F., Lima M.J.A., Nascimento C.F., Rocha F.R.P.* A green and cost-effective procedure or determination of anionic surfactants in milk with liquid-liquid microextraction and smartphone-based photometric detection // *Microchem. J.* 2018. V. 143. P. 259.
18. *Ferrer C., Lozano A., Aguera A., Giron A.J., Fernandez A.R.* Overcoming matrix effects using the dilution approach in multiresidue methods for fruits and vegetables // *J. Chromatogr. A.* 2011. V. 1218. P. 7634.
19. *Амелин В.Г., Большаков Д.С., Подколзин И.В.* Быстрый скрининг и определение остаточных количеств β -лактамов антибиотиков в пищевых продуктах методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии—квадруполь-времяпролетной масс-спектрометрии высокого разрешения // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. № 9. С. 806.

ПРОФЕССОРУ Т. Ю. РУСАНОВОЙ – 50 ЛЕТ

DOI: 10.31857/S0044450221100145



3 октября 2021 г. исполняется 50 лет Татьяне Юрьевне Русановой – доктору химических наук, заведующей кафедрой аналитической химии и химической экологии Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского (СГУ).

Т.Ю. Русанова родилась в Саратове, в 1988 г. окончила школу с серебряной медалью. В том же году поступила на химический факультет СГУ, который окончила в 1993 г., получив диплом с отличием. С 1996 г. она инженер отдела аналитической химии НИИХимии СГУ и аспирант кафедры аналитической химии и химической экологии. В 1999 г. защитила кандидатскую диссертацию, с 2000 г. ассистент, а с 2002 г. доцент кафедры. В 2003–2004 гг. выполняла обязанности зам. декана по научной работе, в 2004–2009 гг. – по социально-воспитательной работе, а в 2005–2006 гг. – одновременно зав. лабораторией на кафедре. В 2006–2009 гг. обучалась в докторантуре, по окончании которой защитила докторскую диссертацию.

С 2010 г. – профессор, а с 2012 г. – зав. кафедрой аналитической химии и химической экологии СГУ. С 2006 г. Татьяна Юрьевна член НСАХ РАН, в 2010–2014 гг. член комиссии по наноаналитике. С 2009 г. по настоящее время – ученый секретарь диссертационного совета, работе в котором уделяет много внимания и сил. Она была победителем конкурса фонда Потанина для молодых преподавателей (2005 г.), с 2015 г. – ассоциированный редактор журнала “Environmental Chemistry Letters”. Неоднократно проходила стажировки и участвовала в конференциях за рубежом (университеты Флоренции, Гента, Мюнхена, Регенсбурга, Колорадо, Анкары, Фучжоу, Индийский технологический институт Бомбея).

Научные интересы Татьяны Юрьевны обширны и связаны с использованием в химическом анализе наноматериалов и нанотехнологий, которые применяются для разработки химических и биохимических сенсоров (оптических и пьезоэлектрических), иммунных и тест-методов анализа, контроля качества объектов окружающей среды, пищевых продуктов методами абсорбционной, люминесцентной и КР-спектроскопии. Под руководством Т.Ю. Русановой защищены 3 кандидатские диссертации, она получала гранты Американского химического общества, РФФИ, в том числе имела международный проект с Индией, гранты DAAD, Министерства образования и науки РФ. Она имеет более 200 публикаций, из них 3 главы в монографиях (одна за рубежом), 5 патентов, 32 статьи в журналах, индексируемых в базах данных WoS и Scopus. В соавторстве с Р.К. Черновой написала книгу “Становление и развитие аналитики на кафедре аналитической химии и химической экологии Саратовского университета (1930–2015)”. В течение многих лет читает курсы “Аналитическая химия”, “Методы анализа объектов окружающей среды”, “Компьютерные методы в науке и образовании” и др. Она стояла у истоков введения и разработки тематики дополнительной квалификации “Эколог в области химии”. Была одним из организаторов международных конференций “ARGUS’2007 – Nanoanalytics”, “12th Winter Symposium on Chemometrics, 2020”.

Отличительными чертами характера Татьяны Юрьевны являются высочайшее чувство ответственности при выполнении как научной, так и научно-организационной работы, стремление ставить общественные дела выше личных, глубоко вникать в суть дела и тем самым обеспечивать высокую надежность получаемых результатов. Она чрезвычайно доброжелательный и отзывчи-

вый человек, готовый всегда прийти на помощь и подставить свое плечо.

Редколлегия и редакция “Журнала аналитической химии”, коллеги и друзья от всей души поздравляют Татьяну Юрьевну с юбилеем, желают ей здоровья, успехов в педагогической, научной и научно-организационной деятельности и неиссякаемой энергии.