

# СОДЕРЖАНИЕ

---

---

Том 77, номер 7, 2022

---

---

## ОБЗОРЫ

Летучие органические соединения в выдыхаемом воздухе как биомаркеры рака легких. Достижения и возможные проблемы

*Э. М. Гашимова, А. З. Темердашев, В. А. Порханов,  
И. С. Поляков, Д. В. Перунов*

585

Аминоспирты: хроматографические методы определения производных азотсодержащих токсичных химикатов

*С. С. Алексенко, И. В. Новикова, Р. И. Новиков,  
Ж. В. Смирнова, В. Б. Кондратьев*

616

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Использование смартфона при идентификации и классификации природных минеральных вод по цветометрии индикаторных бумаг

*В. Г. Амелин, З. А. Ч. Шаока*

638

Факторы, влияющие на результаты определения фтора в горных породах рентгенофлуоресцентным методом с использованием прессованных таблеток

*Т. Г. Кузьмина, М. А. Тронева, Т. В. Ромашова*

645

Новый подход к пробоотбору пленок нефтепродуктов с водной поверхности и их последующий анализ методом хромато-масс-спектрометрии

*Е. Д. Грибова, Б. К. Зуев, Н. А. Полотнянко*

653

Карта селективности неподвижных фаз – графический метод систематизации и поиска условий для газохроматографического разделения полярных веществ

*Е. А. Зайцева, А. М. Долгоносков*

658

Исследование фрагментов лаковых объектов из археологических раскопок могильника Оргойтон (Забайкалье) методом пиролитической газовой хромато-масс-спектрометрии

*К. Б. Калинина, Н. Н. Николаев, М. В. Мичри, А. И. Ревельский*

668

## ХРОНИКА

Конференция и школа “Аналитика Сибири и Дальнего Востока”, посвященные 100-летию со дня рождения И.Г. Юделевича

676

---

---



УДК 543.613;543.544.3;543.51

## ЛЕТУЧИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ В ВЫДЫХАЕМОМ ВОЗДУХЕ КАК БИОМАРКЕРЫ РАКА ЛЕГКИХ. ДОСТИЖЕНИЯ И ВОЗМОЖНЫЕ ПРОБЛЕМЫ

© 2022 г. Э. М. Гашимова<sup>а</sup>, \*, А. З. Темердашев<sup>а</sup>, В. А. Порханов<sup>б</sup>,  
И. С. Поляков<sup>б</sup>, Д. В. Перунов<sup>б</sup>

<sup>а</sup>Кубанский государственный университет  
ул. Ставропольская, 149, Краснодар, 350040 Россия

<sup>б</sup>Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 им. С.В. Очаповского  
ул. 1 Мая, 167, Краснодар, 350086 Россия

\*e-mail: elina.gashimova@yandex.ru

Поступила в редакцию 27.12.2021 г.

После доработки 21.01.2022 г.

Принята к публикации 24.01.2022 г.

Представлен обзор основных результатов, достигнутых различными исследовательскими группами в ходе работ по выявлению биомаркеров рака легких среди летучих органических соединений (ЛОС) в выдыхаемом воздухе. Рассмотрены известные способы определения ЛОС в выдыхаемом воздухе, способы отбора и хранения образцов, концентрирования ЛОС, статистической обработки полученных данных, оценены их преимущества и недостатки. Обобщен перечень основных биомаркеров рака легких. Обсуждены основные проблемы, препятствующие внедрению анализа выдыхаемого воздуха в клиническую практику.

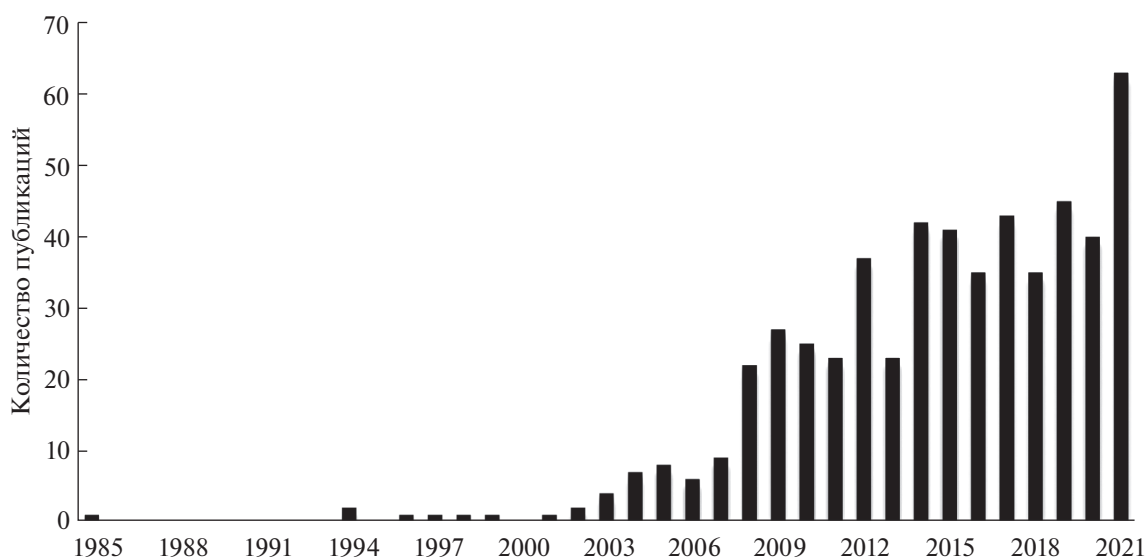
**Ключевые слова:** летучие органические соединения (ЛОС), рак легких, неинвазивная диагностика.

**DOI:** 10.31857/S0044450222070052

Среди приоритетных направлений развития современной медицины разработка эффективных, экспрессных и неинвазивных способов диагностики социально-значимых заболеваний является особенно актуальной. Одним из наиболее труднодиагностируемых, но в то же время быстро и бессимптомно развивающихся агрессивных заболеваний с наибольшим количеством летальных исходов является рак легких [1, 2], эффективность диагностики которого остается низкой, так как симптомы данного заболевания зачастую трудно опознать и легко спутать с признаками старения или курения. В современной клинической практике основными способами диагностики рака легких являются биопсия [3, 4] и компьютерная томография (КТ) [5]. При исследовании методом КТ возможно обнаружить образование в легких, однако для определения характера образования и, в случае обнаружении злокачественного образования, надежной диагностики гистологического типа опухоли и TNM (опухоль, узел, метастазы) стадии необходима биопсия, инвазивная и длительная процедура, сопряженная со стрессом и в некоторых случаях с необходимостью госпитализации пациента. В связи с этим разработка альтернативных способов диагности-

ки рака легких по специфическим биомаркерам в различных биологических объектах активно развивается в последние годы. Особенно интересным представляются объекты, предполагающие неинвазивный отбор проб, такие как выдыхаемый воздух, конденсат выдыхаемого воздуха, моча [6–10]. В первую очередь, это обусловлено простотой процедуры отбора проб, не сопряженной с дискомфортом для пациента, что впоследствии позволит существенно повысить диагностический охват процедуры при успешном прохождении этапа научно-исследовательских работ. Выдыхаемый воздух является одним из наиболее распространенных объектов исследования для идентификации биомаркеров рака легких [11–13].

Профиль летучих органических соединений (ЛОС), содержащихся в выдыхаемом воздухе здорового человека, содержит более 1000 компонентов как эндогенного, так и экзогенного происхождения [14]. На сегодняшний день биохимические процессы, продуктом которых являются ЛОС, выделяющиеся через дыхательные пути, известны лишь для некоторых обнаруживаемых в выдыхаемом воздухе компонентов. Например, ацетон образуется при декарбоксилировании фермента ацетил-КоА, а изопрен является одним



**Рис. 1.** Динамика публикационной активности в области анализа выдыхаемого воздуха для диагностики рака легких в базе данных Elsevier Scopus по ключевым словам “рак легких, выдыхаемый воздух”.

из побочных продуктов при синтезе холестерина в цитозольной фракции. Присутствие предельных углеводов в выдыхаемом воздухе обусловлено пероксидным окислением полиненасыщенных жирных кислот в результате воздействия свободных радикалов, которые могут в дальнейшем окисляться до спиртов, альдегидов и кетонов [15, 16].

Нарушения пролиферации и апоптоза клеток при злокачественных образованиях легких могут существенно исказить профиль ЛОС, содержащихся в выдыхаемом воздухе [17]. Обнаружение изменений в количественном и качественном составе выдыхаемого воздуха, характерных для рака легких, является основой создания неинвазивного, экспрессного и простого способа диагностики, который позволит проводить массовые обследования в комфортном для пациентов режиме.

Исследования по выявлению специфичных для рака легких биомаркеров в выдыхаемом воздухе начали проводить еще в конце прошлого столетия [18, 19]. Количество опубликованных статей, посвященных анализу выдыхаемого воздуха для диагностики рака легких (рис. 1), ежегодно растет, начиная с 2000 года. Интерес научного сообщества к данному направлению обусловлен активным развитием как приборостроения, так и совершенствованием способов подготовки и концентрирования проб, а также разработкой новых сорбционных материалов.

Несмотря на то, что целый ряд научных групп активно работает в данном направлении, диагностика рака легких на основе анализа выдыхаемого воздуха по-прежнему находится на уровне исследований и не используются в клинической практике. На сегодняшний день еще не выявлен исчер-

пывающий перечень биомаркеров, по которым можно было бы судить о статусе заболевания. Однако данные по идентификации биомаркеров в выдыхаемом воздухе, рассмотренные в данном обзоре, позволяют выделить ряд ЛОС, которые относят к перечню биомаркеров наиболее часто (в трех и более исследованиях). Это – производные бензола, спирты, альдегиды, кетоны и некоторые другие (рис. 2).

Далеко не во всех публикациях отображена информация о содержании предполагаемых биомаркеров в выдыхаемом воздухе. В табл. 1 представлены концентрации некоторых предполагаемых биомаркеров в пробах пациентов с раком легких и здоровых людей. Концентрации компонентов весьма низкие (на уровне ppb и ниже), что требует применения аналитических методов, способных одновременно определять широкий круг ЛОС в данных диапазонах концентраций.

В данном обзоре рассмотрены все этапы анализа выдыхаемого воздуха, включая отбор проб, концентрирование и определение ЛОС с применением различных аналитических методов. Кроме этого, систематизированы и обобщены основные результаты, достигнутые различными исследовательскими группами, касающиеся разработки способа диагностики рака легких по выдыхаемому воздуху, и обсуждены возможные проблемы, препятствующие внедрению подобных технологий в клиническую практику.

## АНАЛИЗ ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА

На сегодняшний день не установлено единого способа анализа проб выдыхаемого воздуха для целей диагностики рака легких. Профиль ЛОС



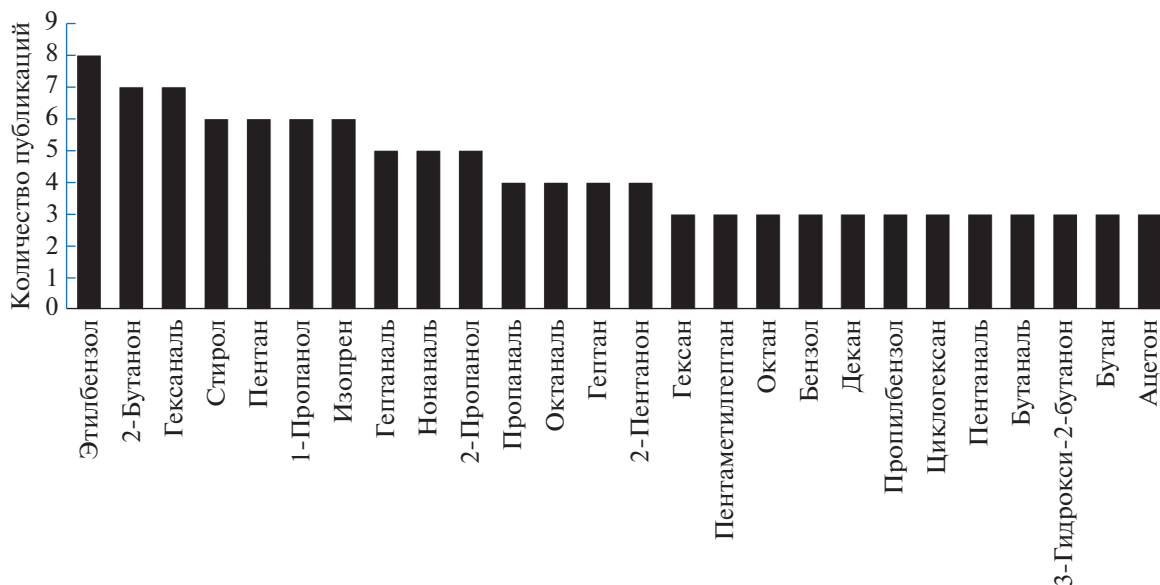


Рис. 2. Летучие органические соединения, наиболее часто отмеченные исследователями как потенциальные биомаркеры.

образца можно анализировать различными аналитическими методами, некоторые из них предполагают стадии отбора проб и концентрирования ЛОС пробы, которые также можно проводить по-разному. В данном разделе описаны особенности, достоинства и недостатки различных вариантов процедур отбора проб, концентрирования ЛОС из пробы и методов анализа проб выдыхаемого воздуха.

**Отбор проб выдыхаемого воздуха.** С точки зрения отбора проб выдыхаемый воздух можно условно разделить на две группы, отличные по количественному и качественному составу: воздух мертвого пространства и альвеолярный воздух. Альвеолярный воздух содержит преимущественно эндогенные компоненты, попадающие в легочные альвеолы в результате газообмена с кровью [30, 31], а воздух мертвого пространства — это воздух, заполняющий дыхательные пути и не участвующий в газообмене с кровью, вследствие чего в его состав входит много экзогенных компонентов. На сегодняшний день единый подход к отбору проб выдыхаемого воздуха отсутствует, поэтому можно наблюдать значительную вариативность способов отбора проб в различных исследованиях, что может отражаться на результатах.

Проба может содержать компоненты, отобранные за один или несколько выдохов. Зачастую при отборе проб за один выдох участнику исследования необходимо сделать маневр форсированной жизненной емкости легких (глубокий вдох и выдох), что обеспечивает получение наиболее информативных результатов [32], однако выполнение маневра при патологии может вы-

звать затруднения вплоть до болевых ощущений и невозможности полноценно осуществить процедуру. Это обстоятельство может вносить существенную погрешность в результаты исследований. Более надежные и воспроизводимые результаты получаются при отборе усредненной пробы, полученной за несколько выдохов [33].

Использование химически инертных пакетов из таких материалов как тедлар или майлар для отбора проб (рис. 3а) — наиболее простой и распространенный способ отбора проб выдыхаемого воздуха, однако применение пакетов для отбора проб имеет ряд недостатков. В большинстве исследований пробы, отобранные в пробоотборные пакеты, хранят не более 6–8 ч. В работе [34] отмечается, что потери пробы при ее хранении в пакете тедлар в течение 52 ч не превышают 10%, в исследовании [35] показано, что в течение 20 ч пробы остаются стабильными при хранении в пакете как из майлара, так и из тедлара. Другим немаловажным фактором, который необходимо учитывать при хранении образца в пакете тедлар, является неустойчивость мембраны для твердофазной микроэкстракции (ТФМЭ) к внешним загрязнителям, за счет чего возможна контаминация пробы компонентами окружающего воздуха при длительном хранении [36]. Источниками загрязнения пробы фенолом при хранении являются и сами пробоотборные пакеты, а при использовании пакета из тедлара пробы дополнительно загрязняются N,N-диметилацетамидом [34, 35]. Стоит отметить, что степень контаминации тедларовых пакетов варьируется в зависимости от производителя [37]. Данные факторы необходимо принимать во внимание во избежание ложной

**Таблица 1.** Содержание некоторых потенциальных биомаркеров в выдыхаемом воздухе пациентов с раком легких и здоровых людей

| Биомаркер  | Диапазон концентраций, медиана, ppb (если не указано другое) |                         | Литература |
|------------|--|-------------------------|------------|
|            | здоровые добровольцы   | пациенты с раком легких |            |
| Этилбензол | 3–16, 3  | 3–9, 4                  | [20]       |
|            | 8.6–14.0, 10.4   | 4.6–89.3, 19.6          | [21]       |
|            | 10.8–15.1, 13.6 pM   | 13.6–32.6, 24.0 pM      | [22]       |
|            | 1.45–3.16, –   | 2.22–18.38, –           | [23]       |
| 2-Бутанон  | 5–50, 7  | 7–14, 9                 | [20]       |
|            | 1.35–3.18, –   | 1.35–2.86, –            | [23]       |
|            | 3.8–8.8, 5.1   | 3.8–38.8, 8.8           | [21]       |
| Гексаналь  | 2–8, 3   | 2–14, 4                 | [20]       |
|            | 0  | 3.8–5.3, 4.5            | [21]       |
|            | 0 nmol/L   | 0.010 nmol/L            | [24]       |
|            | 7.0–13.8, 10.3 pM  | 26.6–57.7, 38.1 pM      | [25]       |
| Стирол     | 5.3–21.8, 12.3 pM  | 8.5–37.2, 17.9 pM       | [22]       |
| Пентан     | 3–664, 111   | 3–223, 11               | [20]       |
|            | 6.8–14.3, –  | 0.7–17.5, –             | [26]       |
|            | 7.0–412.4, 104.8   | 3.7–116.7, 39.8         | [21]       |
|            | 107.7–462.7, 268.0 pM  | 361.3–1112.5, 647.5 pM  | [22]       |
| 1-Пропанол | 6.84–94.36, –  | 0.73–17.50, –           | [23]       |
|            | 29–116, 61   | 29–424, 99              | [20]       |
|            | 0  | 4.37–13.15, –           | [26]       |
|            | 6.6, 6.6   | 5.4–473.3, 54.8         | [21]       |
| Изопрен    | 0  | 4.37–93.15, –           | [23]       |
|            | 27–812, 190  | 66–870, 280             | [20]       |
|            | 19.5–200.5, 70.8   | 19.2–295.5, 100.3       | [21]       |
|            | 1399–6589, 3789 pM   | 3130–8863, 6041 pM      | [22]       |
|            | 1.30–498.01, –   | [27]                    |            |
|            | 37–234, –  | [28]                    |            |
| Гептаналь  | –, 0.003 nmol/L  | –, 0.011 nmol/L         | [24]       |
|            | 3.8–10.1, 6.9 pM   | 9.3–21.3, 16.1 pM       | [25]       |
| Нонаналь   | –, 0.033 nmol/L  | –, 0.239 nmol/L         | [24]       |
|            | 7.2–22.7, 13.3 pM  | 31.6–62.5, 48.2 pM      | [25]       |
| 2-Пропанол | 19–725, 169  | 20–1007, 498            | [20]       |
|            | 3.21–4.17, –   | 3.32–7.19, –            | [26]       |
|            | 13.3, 13.3   | 8.7–989.2, 149.5        | [21]       |
|            | 3.21–14.17, –  | 3.32–19.19, –           | [23]       |
| Пропаналь  | 1–12, 5  | 1–82, 19                | [20]       |
|            | 1.56–3.44, –   | 1.56–3.74, –            | [26]       |
|            | 5.6–9, 6.9   | 5.5–33.8 7.8            | [21]       |
|            | 0 nmol/L   | –, 0.009 nmol/L         | [24]       |
|            | 42.4–72.6, 52.4 pM   | 17.1–46.9, 24.4 pM      | [25]       |
| Октаналь   | 0.56–3.44, –   | 0.66–3.74, –            | [23]       |
|            | 0.011 nmol/L   | 0.052 nmol/L            | [24]       |
|            | 7.2–16.2, 11.6 pM  | 17.7–33.2, 23.6 pM      | [25]       |

Таблица 1. Окончание

| Биомаркер            | Диапазон концентраций, медиана, ppb (если не указано другое) |                            | Литература      |
|----------------------|--|----------------------------|-----------------|
|                      | здоровые добровольцы   | пациенты с раком легких    |                 |
| Гептан               | 3–9, 5   | 2–4, 3                     | [20]            |
|                      | 3.6–13.5, 5.2  | 3.1–4.3, 3.4               | [21]            |
|                      | 5.0–15.3, 8.4  | 1.5–34.0, 13.5             | [22]            |
| 2-Пентанон           | 5–10, 6  | 5–39, 9                    | [20]            |
|                      | 1.80–4.11  | 3.25–8.77                  | [26]            |
|                      | 4.6–5.1, 4.8   | 4.4–53.2, 7.5              | [21]            |
| Гексан               | 3–145, 18  | 3–16, 10                   | [20]            |
|                      | 1.75–6.31, –   | 1.44–1.88, –               | [26]            |
|                      | 4.8–46.3, 20.3   | 2.5–76.1, 33.6             | [21]            |
| Октан                | 1.75–6.31, –   | 0.82–1.88, –               | [23]            |
|                      | 4.0–50.8, 20.2 pM  | 22.4–112.9, 61.0 pM        | [22]            |
|                      | Бензол   | 3–23, 7                    | 3–10, 5         |
| Бензол               | 1.38–14.97, –  | 1.29–3.82, –               | [26]            |
|                      | 4.3–12.2, 6.3  | 4.3–10.5, 5.4              | [21]            |
|                      | 27.7–68.6, 44.7 pM   | 62.2–132.2, 94.5 pM        | [22]            |
| Декан                | 1.15–14.97, –  | 0.88–3.82, –               | [23]            |
|                      | 4–72, 11   | 3–35, 9                    | [20]            |
|                      | 14.3–405.5, 208.7 pM   | 277.9–1321.6, 568.0 pM     | [22]            |
| Циклогексан          | 1–96, 20   | 3,1, 3,1                   | [20]            |
| Пентаналь            | 5–11, 7  | 4–7, 5                     | [20]            |
|                      | 0  | 4.8–7.2, 5.9               | [21]            |
|                      | 4.4–14.7, 8.2 pM   | 12.7–42.6, 17.7 pM         | [25]            |
| Бутаналь             | 0.002 nmol/L   | 0.019 nmol/L               | [24]            |
|                      | 1.35–1.87, –   | 1.32–2.55, –               | [26]            |
|                      | 6.9–18.6), 10.8 pM   | 18.7–41.0, 26.2 pM         | [25]            |
| 3-Гидрокси-2-бутанон | 0.52–1.87, –   | 0.78–2.55, –               | [23]            |
|                      | Менее 6.21 ng/L, 1.29 ng/L                                   | 1.95–50.30 ng/L, 8.28 ng/L | [29]            |
|                      | Бутан  | 5.2–165.7, 56.2            | 6.1–421.3, 90.3 |
| Ацетон               | 0.46–16.63, –  | 0.58–2.71, –               | [23]            |
|                      | 135–3167, 580  | 83–7769, 1000              | [20]            |
|                      | 41.6–753.4, 225.7  | 112.3–2653.7, 358.6        | [21]            |
| Ацетон               | 44.20–531.45, –  | 34.57–390.60, –            | [26]            |
|                      | 14.44–531.45, –  | 34.57–390.60, –            | [23]            |
|                      | 48.20–1159.13, –   | 60–689.4, –                | [27]            |
|                      |  |                            | [28]            |

Примечание: “–” – информация не указана.

интерпретации результатов. Следует учитывать, что при отборе выдыхаемого воздуха в пробоотборный пакет в пробу попадает воздух мертвого пространства, что сопряжено с наличием в пробе экзогенных компонентов, которые могут быть ошибочно интерпретированы как биомаркеры.

Для получения более информативной картины относительно эндогенных компонентов, входящих

в состав выдыхаемого воздуха, применяют пробоотборники, позволяющие снижать долю воздуха мертвого пространства в пробе путем отброса фиксированного количества пробы в начале выдоха. Отброс неинформативной части пробы может осуществляться за счет использования системы из двух пакетов, соединенных трехклапаным краном (рис. 3б), [38, 39] либо путем при-

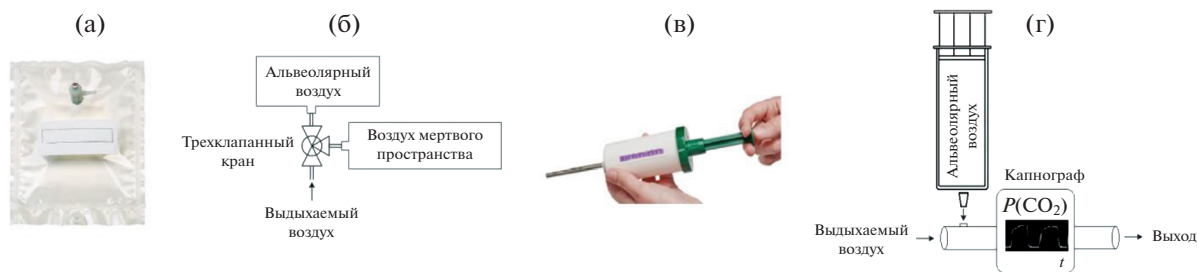


Рис. 3. Варианты отбора проб: (а) – пробоотборный пакет; (б) – система из двух пакетов, соединенных трехклапанным краном; (в) – пробоотборник BioVOC; (г) – система из пластиковой трубки и шприца, подсоединенной к капнографу

менения расходомера с клапаном, который открывается после пропускания фиксированного количества пробы [40]. Подобный принцип работы лежит в основе коммерчески доступного и широко используемого пробоотборника BioVOC (рис. 3в) [22, 25, 41–43], позволяющего отбросить всю пробу, кроме последних 150 мл. Применение подобных устройств для отбора проб позволяет снизить количество экзогенных компонентов в образце, однако доля альвеолярного воздуха в пробе может быть различной у разных людей в зависимости от объема легких, что может вносить дополнительную погрешность в результаты.

Наиболее надежным способом получения пробы альвеолярного воздуха является использование пробоотборников, в которых разделение выдыхаемого и альвеолярного воздуха основано на отличии концентрации углекислого газа в альвеолярном и выдыхаемом воздухе, которую определяют с помощью капнографа. Существуют различные виды подобных пробоотборников: от самых простых, собранных вручную (рис. 3г), которые состоят из пластиковой трубки, подсоединенной к капнографу [24, 30], до коммерчески реализуемых более усовершенствованных приборов, позволяющих в автоматическом режиме направлять поток альвеолярного воздуха в пробоотборный пакет [21, 24, 44, 45] либо в сорбционную трубку [46]. Концентрации эндогенных соединений значительно выше в пробах альвеолярного воздуха, поэтому данный подход является наиболее предпочтительным для применения в клинических исследованиях, однако необходимость использования дополнительного оборудования может ограничить мобильность отбора проб и отразиться на пропускной способности при проведении массовых обследований.

Стоит отметить, что при хранении пробы при комнатной температуре возможна конденсация водяного пара в пакете для отбора проб и во всех соединяющих линиях пробоотборников, что влечет за собой частичную абсорбцию полярных компонентов пробы и возможные искажения результатов анализа. Для предотвращения конденсации водяного пара в некоторых пробоотборниках предусмотрен нагрев соединяющих линий и

пакетов до 37–40°C [47, 48], однако в работе [29] отмечается, что при температуре более 30°C ацетон, в некоторых публикациях отмеченный как биомаркер рака легких, окисляется до диацетила. В связи с этим при использовании пробоотборников, предусматривающих нагрев пробы, отнесение данных компонентов к биомаркерам может привести к ошибочным выводам.

**Концентрирование летучих органических соединений пробы.** Поскольку концентрации многих ЛОС в выдыхаемом воздухе малы, применение ряда аналитических методов требует стадии предварительного многократного концентрирования, которое, как правило, осуществляется с использованием сорбционных трубок или волокон для ТФМЭ. Основные характеристики данных способов концентрирования представлены в табл. 2.

Выдыхаемый воздух содержит широкий спектр ЛОС разных классов, что обуславливает применение комбинированных сорбционных материалов. В случае сорбционных трубок довольно часто используют сочетание тенакса и углеродных молекулярных сит [50, 58], сорбентов на основе графитированного углерода [36, 43, 48], а также полимерный сорбент тенакс [41, 47, 49]. При концентрировании с применением ТФМЭ в основном применяют биполярную фазу карбоксен/полидиметилсилоксан [20, 28, 29, 54], позволяющую концентрировать широкий спектр ЛОС в следовых количествах, также нередко используют полидиметилсилоксан [47, 50].

Метод концентрирования ЛОС из выдыхаемого воздуха в сорбционных трубках позволяет извлекать все ЛОС из пробы и является относительно простыми в реализации, однако к недостаткам можно отнести необходимость приобретения дополнительного оборудования. Преимуществами ТФМЭ являются простота и отсутствие необходимости применения дополнительного оборудования, однако при длительном экспонировании волокна в пробе его емкости может оказаться недостаточно, вследствие чего может возникнуть значительная дискриминация пробы. Другим недостатком является сложность практического применения, обусловленная хрупкостью волокна.

**Таблица 2.** Аналитические характеристики способов концентрирования в сорбционных трубках и на волокне для твердофазной микроэкстракции

| Сорбционные трубки  |   |                  | ТФМЭ  |   |                  |
|---|---|------------------|---|---|------------------|
| сорбент; $T_{\max}$ , °С  | удерживаемые ЛОС  | литература       | НЖФ*; $T_{\max}$ , °С   | удерживаемые ЛОС  | литература       |
| Тенак ТА 60/80 mesh (поли(2,6-дифенил- <i>p</i> -фениленоксид); 350 | Ароматические неполярные ЛОС (с температурой кипения более 100°C) и менее летучие полярные ЛОС (с температурой кипения более 150°C) | [18, 41, 47, 49] | PDMS (полидиметилсилоксан); 300                                 | Низкомолекулярные неполярные ЛОС  | [47, 50]         |
| Carborack В 60/80 mesh (графитированный уголь); 400                 | Алкилбензолы и алифатические ЛОС (С8 до С16)  | [51–53]          | CAR/PDMS (карбоксен/полидиметилсилоксан); 320                   | Следовые количества летучих органических соединений                                     | [23, 26, 29, 54] |
| Carbotrap 20/40 mesh (графитированный уголь); 400                   | Кетоны, спирты, альдегиды, все неполярные соединения (с температурой кипения более 75°), перфторуглеродные газы                     | [19, 48]         | CAR/PDMS/DVB (карбоксен/полидиметилсилоксан/дивинилбензол); 270 | Следовые количества ЛОС в диапазоне С3–С20  | [41, 55, 56]     |
| Carbosieve SIII 60/80 mesh (углеродное молекулярное сито); 400      | Сверхлетучие соединения (углеводороды С3, С4, летучие галогенсодержащие соединения и фреоны)  | [19, 50]         | DVB/PDMS (дивинилбензол/полидиметилсилоксан); 270               | Полярные соединения, летучие органические амины и нитроароматические соединения, спирты | [57]             |

\* Неподвижная жидкая фаза.

Для концентрирования некоторых компонентов выдыхаемого воздуха, таких как альдегиды и кетоны, содержание которых выдыхаемом воздухе может быть ниже пределов обнаружения, целесообразно применять дериватизацию. Один из способов – дериватизация альдегидов на волокне для ТФМЭ с пентафторбензол гидрогсиламин гидрохлоридом в качестве дериватирующего агента [59], который неоднократно применяли для определения альдегидов в выдыхаемом воздухе пациентов с раком легких и здоровых людей [24, 25].

Описан [60] другой способ дериватизации альдегидов и кетонов в выдыхаемом воздухе с применением микрореактора, представляющего собой кремниевую пластинку, покрытую слоем аминокси-функционализованной соли четвертичного аммония, которая селективно взаимодействует с альдегидами и кетонами с образованием оксимового эфира, впоследствии определяемого на масс-спектрометре с преобразованием Фурье. Этот способ впоследствии применен для идентификации биомаркеров рака легких в выдыхаемом воздухе в США [61].

Разрабатываются альтернативные сорбционные материалы для концентрирования ЛОС из выдыхаемого воздуха [62], а также применяются

нетрадиционные способы концентрирования, например концентрирование компонентов пробы из выдыхаемого воздуха в ацетон [51].

**Детектирование летучих органических соединений. Газовая хроматография.** Методы газовой хроматографии широко применяют для исследования профиля ЛОС в выдыхаемом воздухе, так как они позволяют определять большое количество соединений в достаточно низком концентрационном диапазоне (от ppb до ppt) [63]. Ввиду вариативности состава проб в достаточно широких пределах разделить все ЛОС, используя одну газохроматографическую колонку, практически невозможно, поэтому в некоторых работах для разделения применяют различные типы газохроматографических колонок: диметилполисилоксан [22, 40, 43], фенил-диметилполисилоксан [41, 49, 55, 57, 64] цианопропилфенил-метилполисилоксан [54, 65], полиэтиленгликоль [18], колонки с пористым слоем на стенках (PLOT) [21, 26, 28, 66] либо для разделения наиболее широкого круга ЛОС используют системы из двух последовательно соединенных колонок [36]. Наиболее распространенным методом анализа выдыхаемого воздуха является газовая хромато-масс-спектрометрия (ГХ-МС), поскольку данный метод позволяет одновременного идентифицировать большое

число соединений и получать наиболее полную информацию о качественном и количественном составе пробы с достаточно высокой чувствительностью. Однако метод ГХ-МС не лишен недостатков, существенно осложняющих внедрение подобных методик анализа в клиническую практику. Чувствительности данного метода недостаточно для прямого анализа образцов, что требует предварительного многократного концентрирования аналитов. Метод ГХ-МС не позволяет анализировать пробы в режиме онлайн; процедура анализа, включающая отбор проб, концентрирование и анализ, зачастую весьма длительна, а сложность как самого оборудования, так и интерпретации результатов требует высокой квалификации персонала, тем не менее, учитывая возможность автоматизации ГХ-МС-анализа и возможности хранения проб в отобранном или концентрированном виде, данный подход вполне пригоден для массовых обследований. Для проведения рутинных работ возможно использование более простого в эксплуатации и при интерпретации результатов пламенно-ионизационного детектора [35, 51], однако данный подход применим только при наличии списка необходимых биомаркеров, для определения которых чувствительность данного прибора будет достаточной.

**Масс-спектрометрия.** В методе спектрометрии ионной подвижности с детектированием ионов в масс-спектрометре (СИП МС) молекулы образца сначала ионизируются, затем их разделение осуществляется за счет различной подвижности в потоке нейтрального газа, которая зависит как от состава дрейфующего газа, так и от электрического поля. С использованием метода СИП МС можно определять ЛОС в концентрациях в диапазоне от  $ppbv$  до  $pptv$ , вследствие чего анализ выдыхаемого воздуха данным методом не требует предварительного концентрирования. В исследованиях, посвященных анализу выдыхаемого воздуха, зачастую применяют сочетание метода СИП МС с мультикапиллярной колонкой (МКК) для получения более информативных результатов. Несмотря на отсутствие необходимости концентрирования и достаточно высокую экспрессность анализа, которая зачастую составляет менее 8 мин, метод СИП МС не относится к методам онлайн анализа. К недостаткам относится низкая селективность, не позволяющая идентифицировать ЛОС [67].

Метод масс-спектрометрии с реакцией переноса протона (МС РПП) основан на протонировании аналита ионами  $H_3O^+$ , предварительно сформированными в парах воды в разряде низкого давления с применением полого катода [68]. Метод масс-спектрометрии выбранных ионов в потоке (МС ВИП) основан на химической ионизации аналитов ионами-реактантами  $H_3O^+$ ,  $O_2^+$ , или  $NO^+$ , предварительно выделенными из смеси

компонентов, возбуждаемых в радиочастотном разряде с помощью квадрупольного масс-фильтра [69]. Принципы работы МС РПП и МС ВИП схожи и отличаются только предварительным выделением ионов-реактантов.

К достоинствам методов можно отнести высокую чувствительность и специфичность, а также высокую производительность за счет проведения анализа в онлайн режиме без стадии предварительного концентрирования. Однако данные методы пригодны для анализа ограниченного круга соединений, для которых сродство к протону больше, чем в молекуле иона-реактанта. К недостаткам также относится невозможность различить летучие вещества с одинаковым отношением массы к заряду, что сказывается на качестве идентификации. Кроме того, влажность образца существенно влияет на чувствительность.

**Сенсорные системы типа “электронный нос”.** В последние годы интенсивно развивается альтернативный подход к решению задачи диагностики онкологии легких на основе анализа выдыхаемого воздуха, основанный на применении сенсорных систем типа “электронный нос” [70–72]. Чувствительные элементы матриц химических сенсоров абсорбируют ЛОС или связываются с ними, что приводит к изменению свойств чувствительных элементов, которое можно измерить. Контролируемые свойства зависят от типа используемого датчика; это может быть, например, изменение проводимости, массы, вибрации или цвета чувствительного элемента. Датчики, как правило, перекрестно реагируют на множество ЛОС одновременно, в результате чего можно получить некий общий отклик на профиль ЛОС в выдыхаемом воздухе. Чувствительность сенсорных систем изменяется в зависимости от применяемых сенсорных технологий: некоторые датчики способны анализировать выдыхаемый воздух без предварительного концентрирования.

Анализ выдыхаемого воздуха для диагностики рака легких проводят с применением различных типов химических сенсоров. Широкое распространение получили полупроводниковые сенсоры на основе оксидов металлов. Принцип действия таких сенсоров основан на реакции ЛОС с адсорбированным поверхностным кислородом, в результате чего изменяется преобразовательная способность полупроводников, что является аналитическим сигналом. Датчики такого типа легли в основу коммерчески реализуемого прибора Aeonose [73, 74], одним из направлений применения которого является диагностика рака легких, однако не менее интересной представляется разработка новых уникальных сенсорных систем [75, 76].

Привлекают внимание также хеморезистивные сенсорные системы на базе различных типов наноматериалов, как правило, сферических наночастиц металлов либо одностенных углеродных нанотрубок, покрытых различными органи-

чески функционализированными группами [55, 77]. Механизм работы таких сенсорных систем основан на реакции аналитов с органически функционализированными группами, что приводит к изменению связей между проводящими наноматериалами и, как следствие, к изменению проводимости.

В литературе представлены результаты работ различных исследовательских групп, посвященных диагностике рака легких с использованием коммерческого газоанализатора Syuganose 320, состоящего из 32 сенсоров на основе проводящих полимеров [78–80]. Аналитическим сигналом является изменение сопротивления в результате абсорбции ЛОС на поверхности сенсора, которую покрывают сорбционными материалами, селективными к различным ЛОС.

Отличия в профиле ЛОС в выдыхаемом воздухе пациентов с раком легких и здоровых людей можно фиксировать с применением сенсорных систем типа “электронный нос” на основе пьезо-сенсоров, модифицированных различными типами сорбционных материалов, как правило, металлопорфиринов [39, 81, 82]. При взаимодействии с пробой ЛОС адсорбируются на поверхности покрытия, изменяя частоту колебания пьезокварцевого резонатора, что является аналитическим сигналом.

Интересной альтернативой к перечисленным выше сенсорным системам является колориметрический “электронный нос” на основе химически чувствительных сенсоров, меняющих цвет при взаимодействии с ЛОС [83, 84]. Ввиду большого числа химических индикаторов такие сенсорные системы способны реагировать на довольно широкий круг ЛОС в выдыхаемом воздухе. Результат может быть оценен как визуально, так и с применением спектрометра.

Преимущества и недостатки наиболее распространенных типов сенсорных систем представлены в табл. 3.

Выдыхаемый воздух содержит множество компонентов различной природы, ввиду чего некоторые исследователи применяют комбинированные сенсорные системы, сочетающие в себе различные типы датчиков [85, 86]. Сочетания различных типов сенсоров в одном устройстве может обеспечить большую информативность анализа, однако необходимо учитывать особенности работы каждого из типов сенсоров.

Использование сенсорных систем в качестве инструмента обнаружения рака легких в выдыхаемом воздухе – весьма перспективный подход ввиду высокой производительности, в некоторых случаях отсутствия необходимости подготовки проб, простоты в использовании и невысоких требований к квалификации персонала. Однако сенсорные системы в большинстве случаев перекрестно реагируют на множество ЛОС пробы, что

существенно затрудняет идентификацию и может привести к ошибочной интерпретации данных.

**Результаты исследований по идентификации биомаркеров рака легких.** Газовая хромато-масс-спектрометрия. Наибольшее количество исследований по идентификации биомаркеров рака легких в выдыхаемом воздухе выполнено с применением метода ГХ-МС.

Одна из основных исследовательских групп, работающих в данном направлении, – группа ученых из США под руководством М. Филлипса. Для анализа проб выдыхаемого воздуха применяли ГХ-МС с предварительным концентрированием аналитов в сорбционной трубке. Публикационная активность данной исследовательской группы наблюдалась с 1997 по 2015 гг. [19, 48, 54, 64, 84]. За этот период было разработано специальное устройство для отбора проб альвеолярного воздуха, оптимизированы параметры отбора и концентрирования проб [46], после чего оптимизированные условия применили для анализа двух достаточно больших групп больных и здоровых людей. Для обработки полученных данных применяли различные методы статистической обработки, в том числе был создан новый метод статистической обработки (взвешенный цифровой анализ) [64]. В последней работе группы, посвященной анализу выдыхаемого воздуха для диагностики рака легких, выполнены слепое тестирование и оценка эффективности применения разработанного подхода в качестве дополнения к КТ органов грудной клетки [48]. Нетрудно заметить, что от статьи к статье значительно варьируются как параметры, рассматриваемые в качестве биомаркеров (соединения или ионы, находящиеся во временном интервале хроматограммы), так и перечень рассматриваемых биомаркеров (табл. 4). Также наблюдается снижение производительности диагностических моделей по мере развития работы, т.е. по мере увеличения числа участников исследования, которая на последнем этапе составила 68–70%.

Исследовательская группа польских ученых также внесла значительный вклад в развитие данного направления [21, 26, 28, 66, 87]. Работа выполнена на двух различных масс-анализаторах: квадрупольном и времяпролетном. Исследовали как альвеолярный, так и выдыхаемый воздух. Можно заметить изменение температурных режимов, изменение условий подготовки проб, в исследованиях принимали участие разные группы добровольцев, кроме того, перечень предполагаемых биомаркеров необнороден. Несомненно, стоит отметить большой объем работы с точки зрения не только качественного, но и количественного анализа: во многих из представленных публикаций приведены данные определения многих ЛОС в выдыхаемом воздухе, чем отличаются далеко не все работы. К предполагаемым биомаркерам относят спирты, альдегиды, кето-

**Таблица 3.** Преимущества и недостатки сенсорных систем, применяемых для анализа выдыхаемого воздуха

| Сенсорная система  | Преимущества   | Недостатки   |
|--|--|--|
| Полупроводниковые сенсоры на основе оксидов металлов           | Высокая чувствительность и селективность; возможность проведения анализа в режиме реального времени без предварительного концентрирования и хранения образцов                        | Необходимо контролировать температуру и влажность образца  |
| Хеморезистивные сенсоры на базе различных типов наноматериалов | Чувствительность; высокая скорость отклика и восстановления обеспечивают экспрессность анализа, однако на результат в большинстве случаев влияет влажность образца                   | Необходимо контролировать влажность образца  |
| Проводящие полимеры  | Высокая скорость отклика и восстановления, анализ проб при комнатной температуре, широкий спектр сорбционных материалов  | Необходимо контролировать температуру и влажность образца  |
| Пьезокварцевые микровесы                                       | Высокая чувствительность, возможность проведения анализа в режиме реального времени без предварительного концентрирования и хранения образцов, широкий спектр сорбционных материалов | Необходимо контролировать влажность, температуру, давление, вибрации и наличие агрессивных сред          |
| Колориметрические сенсоры                                      | Простота эксплуатации, менее подвержены влиянию влажности и температуры  | Нечувствительны к углеводородам, низкая чувствительность, сложно подобрать детектирующие элементы и фазы |

ны, ароматические соединения, предельные углеводороды и др.

Несколько публикаций представлено итальянской группой исследователей из Пармы [22, 25, 88]. В качестве биомаркеров рассматривали как весь профиль ЛОС, так и профиль альдегидов. Среди повторяющихся биомаркеров можно выделить 2-метилпентан, гексан, этилбензол и гептаналь. В качестве потенциальных биомаркеров альдегиды неоднократно рассматривали и другие исследовательские группы [24, 62]. Во всех трех работах [22, 25, 88] гексаналь, октаналь и нонаналь относят к биомаркерам рака легких, в двух из трех работ отмечают пентаналь, гептаналь, октаналь и нонаналь.

Результаты работ большинства остальных исследовательских групп представлены в единичных публикациях (табл. 4). В целом можно отметить значительную вариативность исследований как с точки зрения перечня биомаркеров, так и относительно применяемых условий анализа, количества задействованных в исследовании людей, подходов к обработке данных и общего дизайна эксперимента.

*Масс-спектрометрия.* Другие методы масс-спектрометрии не нашли широкого применения для целей диагностики рака легких по выдыхаемому

воздуху, однако в литературе представлены некоторые работы (табл. 5). В случае СИП МС применяют сочетание данного метода с мультикапиллярной колонкой. В двух из трех представленных [93, 94] работ пики не идентифицировали, а в работе [67] ЛОС идентифицировали с помощью базы данных МС ВИП. В одной из ранних публикаций [93] авторам удалось построить модель, классифицирующую образцы выдыхаемого воздуха пациентов с раком легких и здоровых людей без ошибок, однако в более поздних работах чувствительность и специфичность моделей гораздо ниже.

Среди работ с применением масс-спектрометрии с реакцией переноса протона диагностическая модель построена только в работе [96] на основе анализа выдыхаемого воздуха 30 пациентов с раком легких и 30 здоровых людей, где в качестве параметров рассматривали неидентифицированные ионы; производительность составила 80%. В двух других работах [66, 95] представлены перечни биомаркеров, содержания которых статистически значимо отличаются в пробах исследуемых групп участников: перечни биомаркеров, представленные в разных работах не пересекаются (табл. 5). Несмотря на рост числа публикаций с применением метода МС ВИП в различных обла-



**Таблица 4.** Результаты анализа выдыхаемого воздуха методом газовой хромато-масс-спектрометрии различными исследовательскими группами в целях идентификации биомаркеров рака легких

| Биомаркер  | Метод  | Количество участников исследования (возраст) |                             | Статистическая обработка данных (производительность, %)                                  | Литература |
|--|--|--|-----------------------------|--|------------|
|  |  | РЛ   | здоровые (другие патологии) |  |            |
| О-толуидин; анилин   | ТД (Терах) ГХ-МС (CP Wax-57 CB)                            | 14 (59–70)                                   | 17 (25–70)                  | Тест Манна–Уитни   | [18]       |
| Стирол; 2-метилпентан; 2,2,4,6-пентаметилпентан; декан; пропилбензол; ундекан; метилциклопентан; 1-метил-2-пентилциклопентан; трихлорфторметан; бензол; 1,2,4-триметилбензол; изопрен; 3-метилоктан; 1-гексен; 3-метилнонан; 1-тептен; 1,4-диметилбензол; 2,4-диметилпентан; гексаналь; циклогексан; 1-метил-этилбензол; гептаналь   | ТД (Carbotrap C, Carbotrap, Carbosieve SIII) ГХ-МС (HP5MS) | 60 (68.0)                                    | 48 (61.0)                   | ДА (чувствительность – 71.7, специфичность – 66.7)                                       | [19]       |
| Бутан; 3-метилтридекан; 7-метилтридекан; 4-метилоктан; 3-метилгексан; гептан; 2-метилгексан; пентан; 5-метилдекан  | ТД (Carbotrap C, Carborack B) ГХ-МС (HP5MS)                | 67 (66.0)                                    | 41(69.0)                    | ДА (чувствительность – 89.6, специфичность – 82.9)                                       | [52]       |
| Изопрен; 2-метилпентан; пентан; этилбензол; 1,2,4-триметилбензол; толуол; бензол; гептан; декан; стирол; октан; пентаметилпентан   | ТФМЭ (Carboxen/PDMS) ГХ-МС (EquityTM-1)                    | 36   | 50                          | Мультиномиальная логистическая регрессия (чувствительность – 72.2, специфичность – 87.8) | [22]       |
| 1,5,9-Триметилциклодекаптриен; 2,2,4-триметилпентан-1,3-дииддиизобутират; 4-этоксипентилбензоат; 2-метил-1-(1,1-диметилэтил)-2-метил-1,3-пропандиоловый эфир пропановой к-ты; 10,11-дигидро-5Н-добенз-(В, F)-азепин; 1,4-дион, 2,6-бис(1,1-диметилэтил)-2,5-циклогексадиен; 1,1-оксипентилбензол; 2,5-диметилфурфурол; 2,2-диэтил-1,1-бифенил; 2,4-диметил-3-пентанон; транс-кариофиллен; 2,3-дигидро-1,1,3-триметил-3-фенил-1Н-инден; 1-пропанол; 4-метилдекан; 1,2-диэтиловый эфир бензолдикарбоновой кислоты; 2,5-диметил-2,4-гексадиен | ТД (Carbotrap C, Carborack B) ГХ-МС (HP5MS)                | 193 (66.0)                                   | 211 (67.0)                  | Нечетная логика (чувствительность – 84.6, специфичность – 80.0)                          | [57]       |

Таблица 4. Продолжение

| Биомаркер   | Метод                                       | Количество участников исследования (возраст) |            | Статистическая обработка данных (производительность, %)  | Литература |
|---|---|--|------------|--|------------|
|   |   | здоровые (другие патологии)                  | РЛ         |  |            |
| 2-Пропанол; 4-пентен-2-ол; 1,1,2-трихлор-1,2,2-трифторэтан; 2-метокси-2-метилпропан; 1-(метилтио)-(Е)-1-пропен; 2,3-гексадон; 5,5-диметил-1,3-гексадиен; 2,3-дигидро-4-метил-1Н-индиен; камфора; 1,7,7-диметил-(1S)-бицикло [2, 2, 1]гептан-2-он; 4-триметил-3-циклогексен-1-метанол; 5-изопрופןил-2-метил-7-оксабицикло[4,1,0]гептан-2-ол; изомертиловый ионон; 2,2,7,7-тетраметилцикло[6.2.10(1.6)]ундек-4-ен-3-он; 2,2,4-триметил-1,3-пентадиол длизобурат; 4-этоксипентанол; 5-этиловый эфир бицикло[3.2.2]нонан-1,5-дикарбоновой кислоты; 2,2,4-триметил-3-карбокситонопропил, изобутиловый эфир пентановой кислоты; 2-метил-1-(1,1-диметилэтил)-2-метил-1,3-пропандиловый эфир пропановой кислоты; 3,3,6,6-тетрафенил-1,2,4,5-тетроксан; бензофенон; 2,6-бис(1,1-диметилэтил)-4-этилдиеп; 2-[(2-этоксипентанол)-2-циклогексен-1-илиден]метилфуранил; 1,1-(1,2-циклобутандиол)бис-дисульфид; 1,1-[1-(этило)пропилдиен]бисбензол; 1,2,3,4-тетрагидро-9-пропилантрацен; 2-этил-9,10-антрацендиол; 1,1-этилиден-бис(4-этилбензол) | ТД (Carbotrap C, Carborack B) ГХ-МС (HP5MS) | 193 (66.0)                                   | 211 (67.0) | 1. Взвешенный цифровой анализ. (чувствительность – 84.5 специфичность – 81.0) 2. Множественная регрессия. (чувствительность – 68.4 специфичность – 73.5)   | [64]       |
| 1-Пропанол; 2-бутанол; 3-бутин-2-ол; бензальдегид; 2-метилпентан; 3-метилпентан; <i>n</i> -пентан; <i>n</i> -гексан   | ТФМЭ (CAR-PDMS) ГХ-МС (CP-Porabond-Q)       | 65 (63.0)                                    | 31 (38.0)  | Метод Алана Агрести и Брайана Каффо  | [87]       |
| А: 2-бутанол; бензальдегид; 2,3-бутандиол; 1-пропанол;<br>В: 3-гидрокси-2-бутанол; 3-бутин-2-ол; 2-метилбутан;<br>2-метил-2-бутен; ацетофенон; 1-циклопентен; метилпропилсульфид; тетраметилмочевина; пентан; 1-метил-1,3-циклопентандиен; 2,3-диметил-2-бутанол;<br>С: 1,2,3,4-тетрагидроизохинолин; 3,7-диметилундекан; циклобутилбензол; бутилацетат; этиленамин; ундекан  |   |  |            | А: соединения найдены только у больших РЛ<br>В, С: соединения присутствуют в выдыхаемом воздухе здоровых людей, их конц. не более чем на 15% больше, чем в окр. воздухе (чувствительность А, В, С – 52.0, 71.0, 80.0; специфичность А, В, С – 100.0) | [66]       |

Таблица 4. Продолжение

| Биомаркер  | Метод  | Количество участников исследования (возраст) |                             | Статистическая обработка данных (производительность, %)     | Литература |
|--|--|--|-----------------------------|---|------------|
|  |  | РЛ   | здоровые (другие патологии) |   |            |
| Пентаналь; гексаналь; октаналь; нонаналь   | ТФМЭ – дериватизация на волокне PDMS/DVB) GX-МС (MDN-5S) | 12 (55 –81)                                  | 12 (22 –42)                 | Критерий Краскела–Уоллиса                                   | [24]       |
| Нонаналь; гексаналь; октаналь; гептаналь; бутаналь; пентаналь; пропаналь   | ТФМЭ – дериватизация на волокне PDMS/DVB) GX-МС (HP-5MS) | 40 (67.0)                                    | 38 (49.0)                   | ДА, (чувствительность– 90.0, специфичность – 92.1)          | [25]       |
| 1-Бутанол; ацетоин   | ТФМЭ (CAR-PDMS) GX-МС (Rxi <sup>TM</sup> –5MS)           | 43 (58.0)                                    | 41 (48.0)                   | Критерий суммы рангов Уилкоксона                            | [29]       |
| Пропан; 2-пропеналь; сероуглерод; 2-пропанол; этилбензол; стирол;  | ТФМЭ (CAR-PDMS) GX-МС (CP-Portabond-Q)                   | 23 (51 –78)                                  | 31 (20 –58)                 | Тест Манна–Уитни, факторный анализ                          | [23]       |
| Этанол; ацетон; бутан; диметилсульфид; изопрен; пропаналь; 1-пропанол; 2-пентанон; фуран; о-ксилол; этилбензол; пентаналь; гексаналь; нонан  | ТФМЭ (CAR-PDMS) GX-МС (CP-Portabond-Q)                   | 137 (38 –86)                                 | 86 (21 –52)                 | ДА, дерево решений  | [21]       |
| Бутаналь; 2-бутанон; этилацетат; этилбензол; 2-пентанон; пропанол-1; 2-пропанол  | ТФМЭ (CAR-PDMS) GX-МС (CP-Portabond-Q)                   | 29   | 44                          | Критерий Краскела–Уоллиса                                   | [26]       |
| 1-Октен  | ТФМЭ (DVB/CAR/PDMS) GX-МС (SLC-5MS)                      |  |                             | Критерий суммы рангов Уилкоксона                            | [88]       |
| Гексадеканаль; эйкозан; 5-(2-метил)пропилнонан; 7-метилгексадекан; 8-метилпентадекан; 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол; 2,6,11-триметилдодекан; 3,7-диметилпентадекан; нонадекан; 8-тексилпентадекан; 4-метилтетрадекан; 2,6,10-триметилтетрадекан; 5-(1-метил)пропилнонан; 2-метилнафталин; 2-метилгептаноаль; нонадеканол; 2-пентадеканон; тридеканон; 5-пропилтридекан; 2,6-диметилнафталин; тридекан; 3,8-диметилпентадекан; 5-бутинонан | ТФМЭ (PDMS) GX-МС (Rtx-1)                                | 85 (62.0)                                    | 88 (45.0)                   | ДА (чувствительность – 96.5, специфичность – 97.5)          | [40]       |
| 2-Бутанон; 2-гидрокси-2-бутанон; 2-гидроксиацетальдегид; 4-гидроксибуксеналь;  | Силиконовый микрореактор, ИЦР-МС                         | 107 (65.0)                                   | 88 (42.0)                   | Критерий суммы рангов Уилкоксона                            | [89]       |
| 2-Метил-1-пентен; 2-гексанон; 3-гептанон; стирол, 2,2,4-триметилпентан – уменьшились после операции  | ТФМЭ (DVB/CAR/PDMS) GX-МС (SLB-5ms)                      |  |                             | Критерий суммы рангов Уилкоксона, критерий Краскела–Уоллиса | [55]       |

Таблица 4. Продолжение

| Биомаркер   | Метод  | Количество участников исследования (возраст) |   | Статистическая обработка данных (производительность, %)  | Литература |
|---|--|--|---|--|------------|
|   |  | РЛ   | здоровые (другие патологии)             |  |            |
| 2-Бутанол; 2-гидроксиацетальдегид; 3-гидрокси-2-бутанол; 4-гидроксигексеналь  | Силиконовый микрореактор ИЦР-МС                                | 97   | 88                                      | Критерий суммы рангов Уилкоксона   | [90]       |
| Этанол; 2-бутанол; 2,3-бутандиол; 9-тетрадекен-1-ол; октен производные; циклогептан производные; циклононан производные;                    | ТФМЭ (DVB/PDMS) GX-МС (VF-5 ms)                                | 11   | 10                                      | –  | [57]       |
| n-Октан; нонан; 2,3-бутандиол   | ТД (Tenax TA, Carboxen 569, Carboxen 1000) GX-МС (Porabond Q)  | 36 (42–79)                                   | 28 (22–87)                              | Критерий Краскела–Уоллиса  | [58]       |
| Диметилсульфид; 1,4-пентадиен; этилацетат; метилциклопентан; 2-пропанол-2; изобутан; 2,4-диметилпентан                                      | ТФМЭ (CAR/PDMS) GX-МС (P-Porabond-Q)                           | 108 (38–87)                                  | 121 (20–73)                             | Дерево решений, ИНС (чувствительность – 74.0, специфичность – 73.0)  | [20]       |
| 5-(2-Метил-)пропилнонан; 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол; 2,6,11-триметилдодекан; гексадеканаль; 8-гексилпентадекан                          | ТФМЭ (PDMS)/GX-МС; ТД (Tenax TA, Carboxie S-III) GX-МС (Rtx-5) | 79 (63.0)                                    | 38 (52.0)                               | МГК (производительность для каждого ЛОС: 84.5, 72.4, 84.6, 100.0, 67.6)  | [50]       |
| Выдыхаемый воздух: пентан; 2-метилпентан; гексан; этилбензол; гептanal; транс-2-ноненаль; конденсант выдыхаемого воздуха: пероксид водорода | ТФМЭ (CAR/PDMS)/GX-МС (HP-5 MS)                                | 71 (68.0)                                    | 67 (64.0) [доброкачественные опухоли]   | Тест Краскела–Уоллеса, логистическая регрессия   | [88]       |
| Бутан; 2-метилбутан; 4-метилоктан; пропан; 2-пентанон; пропаналь; 2,4-диметилпентан; пропен   | ТФМЭ (CAR/PDMS) GX-МС (CP-Porabond-Q)                          | 123 (36–87)                                  | 217 (20–55)                             | ИНС (5 моделей) (чувствительность – 0.79, 0.79, 0.54, 0.45, 0.59, специфичность – 0.52, 0.52, 0.79, 0.81, 0.83)  | [28]       |
| 500 ионов в диапазоне времени от 1500 до 2500 с   | ТД (Carbotrap C, Carborack B) GX-МС (HP5MS)                    | Построение модели 100 (67.0)                 | Построение модели 35 (44.0)             | С-статистика, взвешенный цифровой анализ, тестирование в 1 лаборатории: (чувствительность – 68.0 специфичность – 68.4) тестирование во 2 лаборатории (чувствительность – 70.1, специфичность – 68.0) | [48]       |
|   |  | Проверка в другой лаборатории 75 (66.0)      | Проверка в другой лаборатории 19 (49.0) |  |            |

Таблица 4. Продолжение

| Биомаркер  | Метод  | Количество участников исследования (возраст) |  | Статистическая обработка данных (производительность, %)                                  | Литература |
|--|--|--|--|--|------------|
|  |  | РЛ   | здоровые (другие патологии)            |  |            |
| <i>n</i> -Пентан; <i>n</i> -гексан; <i>n</i> -гептан; <i>n</i> -октан; <i>n</i> -додекан; 3-метилпентан; циклогексан; бензол; этилбензол; <i>n</i> -пропилбензол; пропаналь; <i>n</i> -бутаналь; <i>n</i> -гексаналь; <i>n</i> -октаналь; <i>n</i> -нонаналь; <i>n</i> -деканаль; 1-бутанол; 2-бутанол; 2-пентанол | ТФМЭ (СAR/PDMS)/ГХ-МС (VF-624ms)   | 37 (66.0)                                    | 23 (61.0)                              | Тест Манна-Уитни, ДА (чувствительность – 84.0, специфичность – 78.0)                     | [54]       |
| Ноновая кислота  | ТД (Tenax TA+ Graphitized Carbon Black + Carbonized Molecular Sieve) ГХ-МС (DBI) | 81 (68.0)                                    | 89 (49.0)                              | Тест Манна-Уитни, (чувствительность – 32.0, специфичность – 88.0)                        | [43]       |
| Синильная кислота; метанол; ацетонитрил; изопрен; 1-пропанол   | ТД ГХ-МС   | 107  | 27 + 78 искусственно созданных         | Метод опорных векторов (чувствительность – 92.5, специфичность – 76.0)                   | [91]       |
| 3-Этилтолуол; 1,2,3-триметилбензол, <i>n</i> -пропилбензол; пропициклогексан; индан; 1-метил-3-пропилбензол; <i>o</i> -ксилол; 4-метил-2-гептанол; метилциклогексан  | ТД (Tenax TA)/ГХ-МС (Rtx-5)  | 58 (51.0)                                    | 125 (61.0) [доброкачественная опухоль] | ROC анализ, ИНС (чувствительность – 80.8, специфичность – 84.0)                          | [47]       |
| Генейкозан; нонадекан; <i>n</i> -пентадекан; гидроксibenзол; додекан; аконитил ангидрид; тиазолин; 8-метил-гептадекан; <i>n</i> -тетракозан  | ТФМЭ (PDMS)/ГХ-МС (Rtx-5)  | 108 (61.0)                                   | 82 (51.0) [доброкачественная опухоль]  | ROC анализ, ИНС по РЛ и доброкач опухоли (чувствительность – 75.6, специфичность – 78.9) |            |
| Гексаналь; гептаналь; октаналь; нонаналь   | ТФМЭ (металлоорганическая каркасная структура ZIF-7) ГХ-МС (КВ-5)                | 6  | 6                                      | Сравнение средних значений: у пациентов с РЛ средние выше                                | [62]       |
| Для отбора значимых биомаркеров 2 подхода, всего 37 соединений, из них 7 определенных обоими подходами: фурфураль; уксусная кислота; фениловый эфир; гептадекан, 2-метил-; 1-метил-2-метиленициклогексан; 7-оксабицикло[4.1.0]гептан, 2-метил-; 4-ундекан, 5-метил-, (E)-, анетол                                  | ТД (Tenax GR, Carboxack B) ГХ×ГХ ВПМС (Rxi-5Siil + ВРХ-50)                       | 15 (62.0)                                    | 14 (58.0)                              | 1 подход: Критерий Фишера, МГК, кластерный анализ;<br>2 подход: случайный лес, МГК       | [36]       |

Таблица 4. Продолжение

| Биомаркер  | Метод   | Количество участников исследования (возраст) |                             | Статистическая обработка данных (производительность, %)  | Литература |
|--|---|--|-----------------------------|--|------------|
|  |   | РЛ   | здоровые (другие патологии) |  |            |
| Ацетон; метилацетат; изопрен; метилвинилкетон; циклогексан; 2-метилгептан, циклогексанон   | ТФМЭ (СAR/PDMS) ГХ-МС (СР-Рogabond-Q)             | 108 (38–57)                                  | 121 (20–73)                 | Тест Манна–Уитни, факторный анализ, ДА, ИНС (чувствительность – 86.0, специфичность – 86.0)  | [44]       |
| 1-Пропанол; 2-пропанол; толуол; этилбензол; спирт  | ТФМЭ (СAR/PDMS)/ГХ-МС (DB-624)                    | 51 (71.0)                                    | 53 (67.0)                   | Тест Манна–Уитни, наивный байесовский классификатор: (производительность – 65.4), логистическая регрессия: (производительность – 78.8), случайный лес: (производительность – 78.8) | [65]       |
| 2-Изопрпил-5-метил-1-гептанол; пентановая кислота; N-[4-бром-н-бутил]-2-пиперидион; 5,5-диметилдундекан  | ТД (Телак), ТФМЭ (DVB/CAR/PDMS) ГХ-ВПМС (НР-5MSI) | 32 (58–60)                                   | 12 (31)                     | Полярные диаграммы   | [41]       |
| 3-Метилгексан; 2,5-диметилфуран; пропилацетат; 2,4-диметилгептан; 1,3,5,7-циклооктатетраен; изопрпил-бензол; стирол; β-пинен; 2,2,4,6,6-пентаметилгептан; 1,2,3-триметилбензол; октаналь; 1,3-дихлорбензол; 1-этил-3-метилбензол; 2,2,4,4,6,8,8-гептаметилюнонан; 3,7-диметилдекан; декан; фенилпропин; 2-этилгексен; 1-этил-2,3-диметилбензол; 15,19-диметилтриакоктан; изоамилацетат; гексаметилдисилоксан | ТД (Телак TA) ГХ-МС (Rtx-5)                       | 60 (62.0)                                    | 176 (64.0)                  | Градиентный бустинг деревьев решений (чувствительность – 83.0, специфичность – 85.0)   | [51]       |
| Пики с <i>m/z</i> меньше 500 (32 500 в каждом образце)   | ФИПАД-ВПМС  | 139 (60.1)                                   | 289 (55.5)                  | Метод опорных векторов (тестовые данные (чувствительность – 93.0, специфичность – 96.7). Валидация на новых данных: (чувствительность – 100.0, специфичность – 92.9)               | [92]       |

Обозначения: РЛ – рак легких, ТД – концентрирование в сорбционных трубках с последующей термодесорбцией, ДА – дискриминантный анализ, ИЦР-МС – масс-спектрометр ионно-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье, ВПМС – времяпролетный масс-спектрометр, ИНС – искусственные нейронные сети, МГК – метод главных компонент, ФИПАД – фотонная ионизация при атмосферном давлении.

стях и активное обсуждение перспектив применения данного метода для диагностики рака легких по выдыхаемому воздуху, конкретная работа по применению данного метода в диагностике рака легких опубликована лишь в 2021 г. [38]. Диагностическая модель построена на основе анализа относительно большой группы людей (148 пациентов с раком легких и 168 здоровых добровольцев), чувствительность и специфичность составили 96.0 и 88.0% соответственно.

*Сенсорные системы.* Среди сенсорных систем наиболее широкое применение в исследованиях, посвященных диагностике рака легких по выдыхаемому воздуху, нашел коммерческий электронный нос на основе нанокompозитной матрицы с 32 полимерными датчиками Cyranose 320. В одной из наиболее ранних работ [32] применение данного электронного носа оказалось эффективным для классификации людей на больных и здоровых, что подтверждено на одной и той же выборке дважды при повторении эксперимента с 10-дневным временным интервалом; это доказывает стабильность результатов и отсутствие влияния внешних факторов. Однако в другом исследовании [79] специфичность оказалась очень низкой (менее 50%). Исследовательская группа из Латвии также опубликовала результаты работ с электронным носом Cyranose 320 [80, 97]. При рассмотрении относительно небольшой выборки пациентов с раком легких и здоровых людей достичь высокой специфичности не удалось, однако на более обширной выборке и при рассмотрении в качестве альтернативной онкологической больной группы не только добровольцев без легочных заболеваний, но и пациентов с доброкачественными опухолями и другими легочными заболеваниями, производительность модели составила более 90% как при рассмотрении только курящих больных и здоровых, так и некурящих, однако стоит отметить, что в данном исследовании модель построена на всем наборе данных без разделения на обучающую и тестовую выборки.

Среди металлооксидных полупроводниковых сенсоров наиболее распространено применение коммерческого электронного носа Aeopose. Ученые из Медицинского центра университета Маастрихта, используя данный “электронный нос”, построили диагностическую модель с применением нейронных сетей и показали на тестовой выборке, что с применением Aeopose удастся правильно классифицировать 87% образцов. Однако в исследовании [70], где в эксперименте принимала участие более обширная группа людей, специфичность оказалась низкой (44.1%), а при добавлении в модель клинических параметров удалось повысить специфичность лишь до 55.9%. Что касается исследований с применением некоммерческих электронных носов на основе металлооксидных полупроводниковых сенсоров,

можно наблюдать разные результаты с общей производительностью от 75.5 [98] до 97.5% [75].

Во многих исследованиях, включающих применение сенсорной системы на основе кварцевых микровесов для диагностики рака легких, наблюдается высокая производительность построенных диагностических моделей, однако в исследовании [99] показано, что влажность образца и условия окружающей среды (температура, влажность, наличие экзогенных соединений в окружающем воздухе в высоких концентрациях) могут существенно влиять на аналитический сигнал, вследствие чего изменения содержаний эндогенных компонентов не могут быть распознаны данным устройством. Конструкция прибора должна быть существенно усовершенствована для определения следовых количеств ЛОС при высокой влажности, а условия окружающей среды должны быть стационарными при работе с приборами подобного типа.

Не менее успешно показали себя различные типы электронных носов на основе наночастиц (табл. 6), тем не менее во всех исследованиях принимали участие небольшие группы добровольцев. Для подтверждения полученных ранее результатов требуется значительное расширение выборки.

Наибольший вклад в развитие исследований с применением колориметрического электронного носа внесли Маззоне и соавт. [45, 84]. В наиболее позднем исследовании [45] проанализирован выдыхаемый воздух 97 пациентов с раком легких и 182 здоровых людей. Производительность модели составила 79%. Авторы показали, что дополнительное использование клинических параметров в качестве предикторов способно значительно повысить производительность.

Применение комбинированных сенсоров хорошо показало себя на относительно небольших выборках [85, 86], однако полученные результаты необходимо подтвердить на большем массиве данных.

Таким образом, исходя из представленных выше результатов анализа выдыхаемого воздуха различными методами для разработки способа диагностики рака легких видно, что на сегодняшний день не обнаружены уникальные биомаркеры, по наличию или отсутствию которых можно было бы надежно ставить диагноз. Интерес исследователей сосредоточен на выявлении комбинации компонентов, содержания которых статистически значимо отличается у пациентов с раком легких и у здоровых людей. Из всех рассмотренных методов анализа выдыхаемого воздуха ГХ-МС остается наиболее подходящим для решения поставленной задачи, так как позволяет идентифицировать все компоненты пробы, что особенно необходимо для выявления исчерпывающего перечня биомаркеров среди множества аналитов. Тем не менее оборудование для этого метода яв-

**Таблица 5.** Результаты анализа выдыхаемого воздуха в целях идентификации биомаркеров рака легких с применением МКК СИП МС, МС РПП и МС ВИП\*

| Биомаркер   | Метод      | Количество участников исследования (возраст) |            | Статистическая обработка данных (производительность, %)  | Литература |
|---|------------|--|------------|--|------------|
|   |            | РЛ   | здоровые   |  |            |
| 23 пика   | МКК СИП МС | 32 (65.1)                                    | 54 (46.0)  | ДА (производительность – 100.0)  | [93]       |
| Додекан; 2-гексанол/2-метилбутилацетат; этилбензол; <i>n</i> -нональ/циклогексанон; гексаналь; гептаналь; 3-метил-1-бутанол; 3-метил-1-бутанол; изопропиламин | МКК СИП МС | 50 (32.0)                                    | 39 (68.0)  | Критерий суммы рангов Уилкоксона, дерево решений (чувствительность – 100.0, специфичность – 76.0)          | [67]       |
| 20 пиков  | МКК СИП МС | 56 (69.9)                                    | 52 (51.2)  | Логистическая регрессия по методу Лассо (чувствительность – 76.8, специфичность – 65.4)                    | [94]       |
| Формальдегид; 2-пропанол  | МС РПП     | 17 (62.4)                                    | 170 (41.0) | Критерий суммы рангов Уилкоксона   | [95]       |
| Изопрен; ацетон; метанол  | МС РПП     | 220 (64.4)                                   | 441 (54.0) | Критерий Краскела–Уоллиса  | [66]       |
| Ионы с <i>m/z</i> 43; 45; 46; 59; 60, 61  | МС РПП     | 30 (54.7)                                    | 30 (34.3)  | Тест Манна–Уитни, ДА (чувствительность – 70.0, специфичность – 90.0)                                       | [96]       |
| 50 ЛОС  | МС ВИП     | 148 (64.5)                                   | 168 (31.4) | Критерий суммы рангов Уилкоксона, бустинг деревьев решений (чувствительность – 96.0, специфичность – 88.0) | [38]       |

\* МКК СИП МС – спектрометрия ионной подвижности с детектированием ионов в масс-спектрометре в сочетании с мультикапиллярной колонкой, МС РПП – масс-спектрометрия с реакцией переноса протона, МС ВИП – масс-спектрометрия выбранных ионов в потоке, ДА – дискриминантный анализ.



**Таблица 6.** Результаты анализа выдыхаемого воздуха в целях идентификации биомаркеров рака легких с применением различных типов “электронного носа”

| Тип сенсорной системы   | Количество участников исследования (возраст) |                             | Статистическая обработка данных (производительность, %)  | Литература |
|---|--|-----------------------------|--|------------|
|   | РЛ   | здоровые [другие патологии] |  |            |
| Суганосе 320  | 10 (45–80)                                   | 10 (45–80)                  | МГК, ДА, (образцы собраны 2 раза через 10 дней, производительность: 1 раз – 90.0, 2 раз – 80.0)  | [32]       |
| Суганосе 320  | 38 (64.2)                                    | 39 (62.5) [ХОБЛ]            | МГК, (чувствительность – 94.0, специфичность – 13.0)   | [79]       |
| Суганосе 320  | 165 (63.8)                                   | 79 (37.1)                   | Метод опорных векторов (чувствительность – 97.8, специфичность – 68.8)   | [97]       |
| Суганосе 320  | 252 (68.7)                                   | 223 (53.8)                  | Логистическая регрессия: РЛ и здоровые некурящие (чувствительность – 91.4, специфичность – 96.0); РЛ и здоровые курящие (чувствительность – 94.2, специфичность – 94.3)  | [80]       |
| Аеопосе   | 60 (65.0)                                    | 107 (63.0)                  | ИНС (чувствительность – 88.0, специфичность – 86.0)  | [74]       |
| Аеопосе   | 138 (67.1)                                   | 143 (62.1)                  | ИНС (чувствительность – 94.2, специфичность – 44.1); многомерный регрессионный анализ (+клические параметры) (чувствительность – 95.7, специфичность – 59.7)   | [73]       |
| Металлооксидные полупроводниковые сенсоры   | 37 (63.3)                                    | 48 (38.7)                   | ИНС (чувствительность – 79.0, специфичность – 72.0)  | [98]       |
| Металлооксидные полупроводниковые сенсоры   | 65 (65.0)                                    | 53 (56.0)                   | Логистическая регрессия, метод ближайших соседей, метод опорных векторов (чувствительность – 95.0, специфичность – 100.0), случайный лес (чувствительность – 90.0, специфичность – 100.0), линейный ДА (чувствительность – 95.0, специфичность – 81.2) | [75]       |
| Кварцевые микровеса, покрытые молекулярными пленками металлопорфиринов              | 35   | 18                          | ДА на основе частичных наименьших квадратов (чувствительность – 100.0, специфичность – 94.4)   | [81]       |
| Кварцевые микровеса с сенсорами, покрытыми молекулярными пленками металлопорфиринов | 28 (62.0)                                    | 36 (63.0)                   | ДА, (чувствительность – 85.7, специфичность – 100.0)   | [82]       |
| Кварцевые микровеса, покрытые молекулярными пленками металлопорфиринов              | 70 (67.0)                                    | 76 (61.0)                   | ДА на основе частичных наименьших квадратов (чувствительность – 81.0, специфичность – 91.0)  | [39]       |

Таблица 6. Окончание

| Тип сенсорной системы  | Количество участников исследования (возраст) |                                       | Статистическая обработка данных (производительность, %)  | Литература |
|--|--|---------------------------------------|--|------------|
|  | РЛ   | здоровые [другие патологии]           |  |            |
| Кварцевые микровеса с золотыми электродами, покрытыми антоцианом   | 23 (62.0)                                    | 77 (62.0)                             | МГК, ДА на основе частичных наименьших квадратов (чувствительность – 86.0, специфичность – 95.0)   | [100]      |
| Органически функционализованные наночастицы золота   | 30 (30–75)                                   | 59 (20–75)                            | МГК  | [101]      |
| Органически функционализованные сферические наночастицы золота и платины   | 24   | 10 [доброкачественная опухоль]        | ДА (чувствительность – 100.0, специфичность – 80.0)  | [55]       |
| 4 хеморезистора на основе одностенных углеродных нанотрубок, покрытых ПАУ и 16 хеморезисторов на основе органически активных сферических наночастиц золота | 50 (64.9)                                    | 19 (60.8) [доброкачественная опухоль] | ДА (чувствительность – 86.0, специфичность – 96.0)   | [56]       |
| Чистые и легированные металлом нанопроволоки $WO_3$ , во время измерения облучаемые УФ-излучением  | 32 (59.6)                                    | 12 (31.3)                             | ДА (точность: перекрестная проверка – 99.2, бутстрэп – 98.6)   | [41]       |
| 36 красителей с разными химическими свойствами   | 49 (65.0)                                    | 94 (56.0)                             | Случайный лес (чувствительность – 73.3, специфичность – 72.4)  | [102]      |
| 24 красителя трех типов: металлохромные, кислотно-основные и сольватохромные   | 92 (68.9)                                    | 137 (58.9)                            | С-статистика (производительность – 81.1)   | [84]       |
| 32 красителя трех типов: металлохромные, кислотно-основные и сольватохромные   | 97 (66.1)                                    | 182 (63.0)                            | С-статистика (производительность – 79.4–86.1)  | [45]       |
| 4 электрохимических сенсора, 1 сенсор с нагретой проволокой, 1 каталитический сенсор горючих газов и 8 металлооксидных полупроводниковых сенсоров          | 24 (63.6)                                    | 28 (48.2)                             | Нечеткий ДА (чувствительность – 91.6, специфичность – 91.7)  | [85]       |
| 5 электрохимических сенсоров, 1 сенсор с нагретой проволокой и 12 металлоксидных полупроводниковых сенсоров  | 46 (58.8)                                    | 41 (34.5)                             | Метод опорных векторов (чувствительность – 97.8, специфичность – 90.2); метод ближайших соседей (чувствительность – 100.0, специфичность – 75.0); метод логит-буст (чувствительность – 87.0, специфичность – 82.9) | [86]       |

ляется громоздким, анализ зачастую длителен, а для обработки результатов необходим высококвалифицированный персонал. Однако применение ГХ-МС в клинической практике могло бы быть реализовано за счет возможности длительного хранения проб после отбора и концентрирования, что позволит создать единые центры анализа проб, куда будут поступать образцы, полученные в различных отдаленных учреждениях. Другим недостатком ГХ-МС является необходимость стадий отбора, концентрирования и хранения образцов, при выполнении которых возможна контаминация пробы и ее частичная потеря.

Устройства типа “электронный нос” значительно проще внедрить в клиническую практику, однако, несмотря на впечатляющую производительность подобных устройств в некоторых исследованиях (табл. 6), они реагируют на “образ” выдыхаемого воздуха, в котором содержится большое количество экзогенных компонентов, что зачастую трудно учесть. Чувствительность “электронного носа” может быть настроена на определенные ЛОС, однако ввиду отсутствия согласованности исследований с точки зрения идентификации компонентов – предполагаемых биомаркеров, в основе работы подавляющего большинства подобных устройств лежат неселективные сенсоры, реагирующие на множество компонентов одновременно, что, с одной стороны, позволяет получить общее представление об отличиях профилей ЛОС в выдыхаемом воздухе пациентов с раком легких и здоровых людей, а с другой стороны, не дает ответа на вопрос: чем обусловлены эти изменения, что сопряжено с ложной интерпретацией полученных результатов. Оптимальный вариант применения таких устройств может быть достигнут только после установления четкого перечня биомаркеров и настройки чувствительности сенсоров на определенные соединения.

#### ВОЗМОЖНЫЕ ПРИЧИНЫ НЕОДНОЗНАЧНОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ РАЗЛИЧНЫМИ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИМИ ГРУППАМИ

**Дифференцирование гистологического типа и стадии заболевания по составу выдыхаемого воздуха.** Вариативность результатов, полученных различными исследовательскими группами, может быть обусловлена не только количеством участников исследования и различием групп больных и здоровых людей, но и отличиями внутри групп. Многие исследователи строят классификационные модели по показателю “норма–патология”, однако состав группы “патология” значительно различается в разных исследованиях по количеству пациентов с разными гистологическими типами и стадией заболевания. Метаболизм и метаболическая активность различных гистологических ти-

пов опухоли могут существенно отличаться, а некроз и скорость распространения опухоли на разных стадиях существенно варьируются, что может отражаться на составе выдыхаемого воздуха.

Некоторые исследователи изучали отличия состава выдыхаемого воздуха и содержаний некоторых ЛОС в зависимости от гистологического типа и стадии опухоли.

Повышенное содержание 1-бутанола и ацетона в группе пациентов с аденокарциномой по сравнению с плоскоклеточным раком наблюдали в исследовании [29] при рассмотрении профиля ЛОС в выдыхаемом воздухе в зависимости от гистологического типа заболевания. В работе [90] показано, что содержание 4-гидрогексеналя отличается у пациентов с плоскоклеточным раком и аденокарциномой, а 4-гидроксиноненаля и пентаналя – в группах с мелкоклеточным раком легких (МРЛ) и немелкоклеточным раком легких (НМРЛ). В исследовании [41] пациентов с МРЛ и НМРЛ можно классифицировать с применением электронного носа с точностью 88.4%, а пациентов с аденокарциномой и плоскоклеточным раком – с точностью 77.5%. При сопоставлении пациентов с различными типами рака легких и здоровых людей Маззоне и соавт. [45] добились точности модели от 70 до 81% при сравнении НМРЛ и здоровых, от 76 до 89% при сравнении МРЛ и здоровых и от 58 до 88% при сравнении плоскоклеточного рака легких (ПРЛ) и аденокарциномы. Корт и соавт. [103] сравнивали чувствительность классификации результатов анализа выдыхаемого воздуха пациентов с разными гистологическими типами и здоровых людей с подтвержденным отсутствием заболевания. Лучше всего удается классифицировать МРЛ и здоровых людей (чувствительность – 88.9, специфичность – 80%), при сравнении здоровых людей с пациентами с аденокарциномой и ПРЛ чувствительность и специфичность составили 81.5, 80.8 и 53.2, 72.5%. В работе [104] значения соотношений некоторых ЛОС (1-метилтиопропан/диметилдисульфид, диметилдисульфид/1-метилтиопропан, ундекан/аллилметилсульфид) статистически значимо отличались в группах пациентов с ПРЛ, МРЛ и аденокарциномой. Однако в исследовании [28] отличий в профилях ЛОС в выдыхаемом воздухе пациентов с различными гистологическими типами не обнаружено.

В работе [64] Филипс и соавт. показали, что стадия заболевания не зависит от параметров, включенных в диагностическую модель. Отсутствие взаимосвязи стадии заболевания с профилем ЛОС в выдыхаемом воздухе также продемонстрировано в исследованиях [28, 29, 40]. В работе [90] отмечается, что концентрация 2-бутанола значительно выше в группах онкобольных со 2-ой и 4-ой стадиями НМРЛ, чем с 1-ой. В исследовании [56] с применением метода ГХ-МС не удалось выявить отличий между ранней и позд-

ней стадиями рака легких, однако, используя “электронный нос” на основе наноматериалов удается классифицировать раннюю и позднюю стадии с чувствительностью 86% и специфичностью 88%. В работе [45] с применением колориметрического сенсора 1-ую и 4-ую стадии заболевания удалось классифицировать с точностью 93.7%.

В единичных работах авторы сопоставляют пробы пациентов с раком легких в зависимости от таких альтернативных параметров, как локализация опухоли и мутация в гене EGFR. В работе [67] наблюдали повышенное содержание додекана в выдыхаемом воздухе пациентов, у которых обнаружена мутация в гене EGFR. В исследовании [104] площади пиков 1-пентанола и значения соотношений площадей пиков 2-бутанон/2-пентанон, диметилдисульфид/2,3-бутандион, 1-пентанол/2,3-бутандион, бутаналь/2,3-бутандион статистически значимо отличались в группах пациентов с центральной и периферической локализацией опухоли. Данные показатели также могут обуславливать вариативность внутри группы с раком легких, что необходимо принимать во внимание.

Исходя из представленных результатов, можно отметить следующее: если в одном исследовании отличия состава проб выдыхаемого воздуха в зависимости от гистологического типа или стадии заболевания видны достаточно четко, то в других исследованиях отмечают, что не наблюдали никаких отличий. Данная проблема может быть решена только при проведении масштабного исследования с исчерпывающим количеством образцов для каждой из рассматриваемых групп.

**Биомаркеры рака легких в тканях и клеточных линиях.** Другой проблемой, которая может частично объяснить неоднородность результатов, полученных различными исследовательскими группами, является недостаточная на сегодняшний день изученность метаболических путей происхождения биомаркеров, вследствие чего некоторые экзогенные компоненты могут быть ошибочно отнесены к перечню биомаркеров. Косвенным подтверждением эндогенной природы компонентов, присутствующих в выдыхаемом воздухе, может быть исследование профилей ЛОС над опухолевыми тканями и клеточными линиями. В работе [105] сопоставляли профили ЛОС, содержащихся в выдыхаемом воздухе и в клеточных линиях. В клеточных линиях обнаружили четыре компонента, характерных для опухолевых клеточных линий, из которых два были идентифицированы как изопрен и ундекан, тогда как в выдыхаемом воздухе содержания 11 ЛОС были характерны для рака легких, среди которых также присутствовали изопрен и ундекан. Профили ЛОС в выдыхаемом воздухе, тканях и клеточных линиях сопоставлены в работе [40], где 2-пентадеканон, нонадекан и эйкозан присутствовали во

всех трех исследуемых матрицах, а тридекан присутствовал как в выдыхаемом воздухе, так и в опухолевых тканях. Подобное исследование проводил Филипак и соавт. [58]. Обнаружено, что концентрации октана в выдыхаемом воздухе, тканях и клеточных линиях повышены в случае рака легких в сравнении с соответствующими здоровыми образцами. Также наблюдалось повышенное содержание 2-метилпентана и гексана в случае рака легких во всех матрицах, однако статистически значимое повышение наблюдалось только в выдыхаемом воздухе.

В работе [106] сопоставляли профили ЛОС 28 образцов опухолевых тканей и 24 образцов доброкачественных тканей. Диагностическая модель, построенная с применением дискриминантного анализа на основе толуола, 1-пенанола, гексаналя, гептанала, стирола, 2,3-октандиона и одного неидентифицированного пика, была способна классифицировать образцы опухолевой и доброкачественной тканей с точностью 98%.

В работе [35] сопоставляли профили ЛОС в выдыхаемом воздухе и опухолевых тканях. Многие из компонентов, присутствующих в выдыхаемом воздухе, также были обнаружены в образцах опухолевых тканей, однако процент образцов тканей, где присутствовали многие из ЛОС, был значительно ниже, чем в случае выдыхаемого воздуха, а площади пиков большинства из компонентов в образцах опухолевых тканей были существенно ниже, чем в выдыхаемом воздухе. В исследовании [107] изучали клеточные линии с использованием метода ГХ-МС. Модель, построенная на 12 ЛОС с максимальным вкладом деканала, ацетофенона и 3-бис(1,1-диметилэтил)бензола, была способна классифицировать НМРЛ и МРЛ со 100%-ной чувствительностью и 75%-ной специфичностью, а модель на основе 9 ЛОС с максимальным вкладом с дискриминирующую способность 2-этил-1-гексанола, 1,3-диметилбензола и 1,3-бис(1,1-диметилэтил)бензола – аденокарциному и ПРЛ со 100%-ной чувствительностью и 67%-ной специфичностью. При использовании сенсорной системы на основе наночастиц анализировали те же образцы, за исключением одного образца клеточных линий ПРЛ. Удалось классифицировать НМРЛ и МРЛ со 100%-ной чувствительностью и 75%-ной специфичностью, а аденокарциному и ПРЛ – с 86%-ной чувствительностью и 100%-ной специфичностью. Сопоставление профилей ЛОС в выдыхаемом воздухе и клеточных линиях проведено в работе [96] с применением метода МС РПП. Среди ионов, статистически значимо отличающихся в образцах выдыхаемого воздуха больных и здоровых людей, только содержание иона с  $m/z = 45$  было повышено.

Результаты исследований профилей ЛОС, содержащихся в тканях и клеточных линиях, как и в случае с выдыхаемым воздухом весьма неоднозначны. Причины получения таких результатов

могут быть связаны как с вариативностью самих проб, анализируемых в различных исследованиях, так и с упущением некоторых важных моментов. Так, например, в публикациях отсутствует описание учета влияния окружающего воздуха, что может привести к рассмотрению экзогенных компонентов как компонентов, выделяющихся из образца. Еще одним недостатком уже выполненных на сегодняшний день исследований является их относительная ненадежность ввиду весьма небольшого объема выборки.

**Биомаркеры оценки эффективности лечения рака легких.** Во многих исследованиях при сопоставлении групп пациентов с раком легких и здоровых людей указывается, что пациенты еще не проходили лечение, тем не менее имеются работы, где статус лечения не указан либо отмечено, что пациенты уже получили лечение. С другой стороны, помимо решения задачи диагностики рака легких не менее важной задачей является мониторинг эффективности применяемых методов лечения. Исследование проб выдыхаемого воздуха до и после лечения может служить дополнительным подтверждением того, что изменения содержаний ЛОС действительно обусловлены заболеванием. Некоторые исследовательские группы уже опубликовали результаты работ в данном направлении. В работе [22] наблюдали статистически значимое снижение концентраций изопрена и декана после операции на основе обследования 26 пациентов с НМРЛ. В работе [89] описано статистически значимое снижение концентраций 2-бутанона, 2-гидроксиацетальдегида и 4-гидроксигексеналя после резекции на основе анализа выдыхаемого воздуха 20 пациентов. В работе [55] анализировали выдыхаемый воздух 10 пациентов с раком легких до и после операции с использованием ГХ-МС и электронного носа. В случае ГХ-МС концентрации стирола, 2-метил-1-пентена, 2-гексана, 3-гептана, 2,2,4-триметилгексана статистически значимо уменьшились после резекции, а на основе результатов анализа с использованием электронного носа построена классификационная модель, где образцы были правильно классифицированы с точностью 80%.

В работе [77], используя сенсоры на основе массива наноматериалов, исследовали изменения в профиле ЛОС в выдыхаемом воздухе в зависимости от реакции на лечение. Группы до и после лечения с положительной реакцией на лечение можно классифицировать с чувствительностью – 93% и специфичностью – 85%, а группы с отрицательной и положительной реакциями на лечение – со 100%-ной специфичностью и 28%-ной чувствительностью. В этом же исследовании образцы выдыхаемого воздуха проанализировали методом ГХ-МС. После лечения наблюдается изменения концентраций стирола,  $\alpha$ -фелландрена, додекана и 4-метилдодекана. В исследовании [76] анализировали образцы вы-

дыхаемого воздуха пациентов с раком легких, полученные до резекции и в первое и второе посещения клиники после резекции. Также отбирали образцы выдыхаемого воздуха здоровых людей с такими же временными интервалами. Показано, что образцы выдыхаемого воздуха здоровых людей остаются стабильными, а у 45.2% пациентов с раком легких наблюдались значительные изменения.

**Селективность биомаркеров рака легких к другим заболеваниям.** Для выявления биомаркеров рака легких большинство исследователей сравнивают профили ЛОС в выдыхаемом воздухе пациентов с раком легких и здоровых людей без каких-либо легочных заболеваний, а наличие других легочных патологий зачастую является исключительным фактором участия в эксперименте. Однако другие легочные заболевания также могут изменить профиль ЛОС, что не учитывается при сравнении большого раком легких и здорового, вследствие чего другие легочные заболевания могут быть ошибочно интерпретированы как рак легких. Другой проблемой является возможность параллельного присутствия у пациента с раком легких других заболеваний, что дополнительно может искажать профиль ЛОС, поэтому при разработке способа диагностики рака легких необходимо учитывать как селективность заболевания относительно других патологий, так и возможную изменчивость пробы при наличии нескольких патологий одновременно.

Доброкачественные опухоли – это образования, которые невозможно отличить от рака легких при диагностике с помощью КТ, поэтому для установления диагноза в большинстве случаев требуется хирургическое вмешательство. Представляет интерес селективность биомаркеров рака легких по отношению к доброкачественным опухолям. В исследовании [56] сравнивали пациентов со злокачественной и доброкачественной опухолями. На основании ГХ-МС-анализа выявлено, что содержание 1-октена статистически значимо отличается в исследуемых группах пациентов, а с применением электронного носа удалось различить группы с чувствительностью 86% и специфичностью 96%. В работе [55] на основе анализа 10 пациентов с доброкачественной опухолью и 24 пациентов с раком легких построена диагностическая модель со 100%-ной чувствительностью и 80%-ной специфичностью. При сопоставлении групп здоровых людей, пациентов с доброкачественными опухолями и с раком легких 96% пациентов с раком легких были идентифицированы правильно [40], в то время как 34% пациентов с доброкачественной опухолью были отнесены в группу здоровых добровольцев, что показывает селективность алгоритма к раку легких. В исследовании [90] наблюдали повышенные концентрации 2-бутанона, 2-гидроксиацетальдегида, 3-гидрокси-2-бутанона и 4-гидроксигексе-

наля у пациентов с раком легких по сравнению со здоровыми людьми и с пациентами с доброкачественной опухолью, а в работе [49] такая зависимость наблюдалась для 5-(2-метил)пропил-нонана, 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метил-фенола, 2,6,11-триметилдодекана, гексадеканала, 8-гексилпентадекана. Построенная Corradi и соавт. [88] классификационная модель позволила отличить пациентов с раком легких и пациентов с доброкачественной опухолью с относительно невысокой точностью (чувствительность – 60.6%, специфичность – 67.2%). При сравнении групп со злокачественными опухолями, доброкачественными опухолями и здоровыми людьми не удалось выявить значительных отличий между группами с доброкачественными и злокачественными опухолями, однако группу здоровых людей можно отличить от группы с легочными заболеваниями с чувствительностью 75.6–80.8% и специфичностью 78.9–84% [47]. В работе [65] сравнивали пациентов с раком легких со здоровыми людьми и с пациентами с образованием по данным КТ, но отрицательной биопсией. Наилучшая производительность при классификации пациентов на больных раком легких и здоровых людей составила 78.8%, однако при сопоставлении пациентов с раком легких и пациентов с отрицательной биопсией производительность оказалась значительно ниже и составила 52.8%. В исследовании [94] при сопоставлении пациентов с раком легких со здоровыми людьми чувствительность и специфичность составили 76.8 и 65.4% соответственно, а при сравнении пациентов с раком легких и с доброкачественными опухолями – 64.3 и 77.1%.

Поли и соавт. [22] сравнили профили ЛОС пациентов с раком легких, пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), здоровых курильщиков и здоровых некурящих людей: чувствительность модели к каждой из сравниваемых групп находилась в диапазоне 72.2–87.8%. В исследовании [32] профили ЛОС в выдыхаемом воздухе пациентов с ХОБЛ и НМРЛ удалось классифицировать с точностью 85%. В работе [34] содержание нонановой кислоты статистически значимо отличалось в группе пациентов с раком легких по сравнению как со здоровыми людьми, так и с пациентами с ХОБЛ. При классификации пациентов с раком легких и ХОБЛ наблюдали [79] достаточно высокую чувствительность 94.0% при низкой специфичности (13%). При сравнении групп пациентов с раком легких, с раком легких и ХОБЛ, с ХОБЛ и здоровых людей почти половина пациентов с раком легких и 2/3 пациентов с ХОБЛ были отнесены к группе пациентов с раком легких и ХОБЛ, в то время как 80% здоровых людей были классифицированы правильно [97]. Те же авторы в своей следующей работе [108] в группу “не рак легких” включили как здоровых, так и пациентов с различными другими легочными патологиями (доб-

рокачественные образования, астма, ХОБЛ, туберкулез и др.), производительность модели при этом составила более 90% как для курильщиков, так и для некурящих. В работе [70] пациенты с ХОБЛ присутствовали как в группе больных раком легких, так и в группе здоровых людей. Производительность построенных моделей увеличилась при добавлении ХОБЛ вместе с другими клиническими показателями в перечень входных параметров диагностической модели. В исследовании [78] при сравнении результатов анализа выдыхаемого воздуха пациентов с раком легких, раком молочной железы, ХОБЛ и здоровыми людьми с применением электронного носа Cyrapose 320 удалось правильно классифицировать группы со 100%-ной точностью.

В сравнительно небольшом количестве исследований принимаются во внимание другие заболевания, которые также могут влиять на состав выдыхаемого воздуха, тем не менее в последние годы наблюдается значительный рост числа публикаций, где в качестве группы сравнения используют не здоровых людей, а пациентов с другими легочными заболеваниями, что в будущем может позволить выявить биомаркеры, обеспечивающие меньшее количество ложноположительных результатов. При этом немаловажными факторами являются не только селективность найденных биомаркеров по отношению к легочным заболеваниям, но и отсутствие влияния сопутствующих заболеваний, таких как сахарный диабет или хроническая сердечная недостаточность, которые распространены среди пожилых людей.

**Другие факторы, влияющие на профиль летучих органических соединений в выдыхаемом воздухе.** На профиль ЛОС в выдыхаемом воздухе могут влиять различные факторы, которые необходимо принимать во внимание при постановке задачи выявления биомаркеров рака легких. К подобным факторам относятся наличие статуса курения, режим питания, влияние окружающей среды, возраст и др.

Курение является одной из основных причин возникновения рака легких, которая значительно изменяет состав выдыхаемого воздуха. Многие из пациентов с раком легких – активные или бывшие курильщики, вследствие чего при сопоставлении профилей ЛОС в выдыхаемом воздухе пациентов с раком легких и здоровых людей компоненты, появляющиеся в выдыхаемом воздухе вследствие курения, могут быть ошибочно интерпретированы как биомаркеры рака легких. В некоторых работах исследовали профили выдыхаемого воздуха курильщиков и некурящих среди здоровых людей. В работе [109] сопоставляли профили ЛОС в выдыхаемом воздухе активных и пассивных курильщиков и здоровых людей. Ацетонитрил, фуран, 3-метилфуран, 2,5-диметилфуран, 2-бутанон, октан и декан присутствовали

только в пробах активных и пассивных курильщиков. В работе [110] выявлено более 80 ЛОС (преимущественно диены, алкены и алкины), содержание которых зависит от курения. На основании исследования 122 человек показано, что профиль ЛОС в выдыхаемом воздухе зависит не только от наличия статуса курения, но от стажа курения. Наличие в выдыхаемом воздухе 2,5-диметилфурана и 1,3,5-гексатриена свидетельствует о наличии статуса курения. Выявлены положительные корреляции уровней концентраций 2,4-диметил-1-гептена, бутилацетата, 2,3-диметилгептана и 4-метилоктана со стажем курения [111]. Повышенное содержание фурана, толуола и 2-бутанола у курильщиков отмечают в работе [112].

Изменения концентраций ЛОС в зависимости от режима питания рассматривают с нескольких сторон: в зависимости от диеты или относительно индекса массы тела. В исследовании [113] отмечается, что с повышением индекса массы тела возрастают концентрации 2-гексанола, *o*-, *m*-, *n*-ксилолов, 7-метил-3-метилен-1,6-октадиена, 2-ацетилпиролла, фенилацетата в выдыхаемом воздухе и убывают концентрации диметилсульфида, 3-формилтиофена, 1,2,4-триметилбензола, 3-пиридинметанола, 1-метокси-4-(1-пропенил)бензола. В работе [114] рассматривали изменения концентрации ацетона в зависимости от диеты. Показано, что при употреблении богатой жиром пищи концентрация ацетона возрастает в пять раз в течение 6 ч после употребления пищи, а низкоуглеводная диета сопровождается повышением концентрации ацетона в 6–9 раз во время применения диеты. Концентрация ацетона увеличивается также при голодании [15]. В исследовании [115] рассматривали изменения ЛОС после употребления в пищу продуктов, богатых клетчаткой. Выявлено, что концентрации этанола, 2-пропанола, ацетоина повышались, в то время как концентрации ацетона, бутанола, диацетила и фенола уменьшались.

Изменения профиля ЛОС с возрастом связывают с кумулятивным окислительным разрушением полиненасыщенных жирных кислот, белков и ДНК, вызванным активными формами кислорода, в результате которого в выдыхаемом воздухе могут появляться алканы и монометилалканы [116]. В исследовании [117] анализ альвеолярного воздуха 102 человек разных возрастов показал, что концентрации некоторых предельных углеводородов, начиная от гексана и заканчивая ундеканом, и их метилированных производных повышаются с возрастом. В работе [113] при анализе выдыхаемого воздуха представительной группы людей (1417 человек) отмечено, что с возрастом наблюдается повышение концентраций диметилсульфида, 1,2,4-триметилциклогексана, 1-метокси-4-(2-пропенил)бензола и понижение концентраций изопрена, пиридина, 2-метил-5-изопрофенил-2-циклогексен-1-она и додеканаля. При анализе выдыхаемого воздуха 126 людей

выявлено, что концентрации изопрена повышены у пожилых людей [118].

При исследовании влияния гендерной принадлежности на состав ЛОС в выдыхаемом воздухе [113] отмечены повышенные концентрации пиридина и толуола у мужчин и повышенные концентрации дисульфида углерода, 2,3-диметил-4-пентенола у женщин. В работе [118] наблюдали повышенные концентрации изопрена у мужчин, однако теоретического обоснования причин этого явления пока нет.

Исследователи, занимающиеся разработкой способа диагностики рака легких по выдыхаемому воздуху, по-разному учитывают влияние перечисленных выше факторов. Из табл. 3–6 видно, что информация о возрасте участников исследования в основном представлена медианами, однако в некоторых исследованиях обозначены лишь возрастные диапазоны. Можно заметить, что в доминирующем количестве исследований возрастная категория пациентов с раком легких и здоровых людей была одинакова и разница в медианных значениях возрастов среди публикаций не превышала 10 лет. Однако имеются публикации, где здоровые добровольцы значительно моложе, чем пациенты с раком легких. С одной стороны, значительные вариации в возрастных группах могут привести к ошибочным данным, а с другой, – на сегодняшний день увеличивается заболеваемость раком среди молодых людей, что также необходимо учитывать. Влияние возраста на изменения профиля ЛОС в выдыхаемом воздухе изучено недостаточно хорошо для того чтобы четко идентифицировать перечень компонентов, чувствительных к возрасту, поэтому, для исключения потенциальных ошибок оптимальным вариантом является исследование больных и здоровых людей одинакового возраста.

Для учета влияния курения некоторые исследователи выделяют курильщиков в отдельную группу при создании классификационных моделей [21, 22, 24, 49, 87]. Другие исследователи исключают курильщиков из исследования и рассматривают только некурящих людей или бывших курильщиков, которые не курили минимум год [29, 58]. В исследовании [80] проблему учета влияния курения решили следующим образом: строили две диагностические модели – для больных и здоровых курильщиков и для больных и здоровых некурящих людей. В работе [84] диагностическую модель проверяли на курильщиках и на некурящих людях; показано, что статус курения не отражается на производительности модели. В исследовании [119] рассматривали влияние курения и гендерной принадлежности на значения площадей пиков и их соотношений, статистически значимо отличающихся в группах пациентов с раком легких и здоровых людей. Исключение параметров, коррелирующих с другими факторами, не отразилось на специфичности диагностических моделей, однако повысило чув-

ствительность. В большинстве других работ влияние курения учитывают за счет установления определенного периода времени, которое должно пройти после последнего курения. Этот период в различных исследованиях устанавливают по-разному: например, в работах [40, 41, 47] перед отбором проб курильщики не курили минимум 12 ч либо ночь перед отбором проб [39], в других исследованиях время после последнего курения ограничивалось 2.5 [35]–2 [77] ч или 1 ч [22, 55, 75]. Имеются также работы, в которых условия отбора проб относительно курения не описаны [20, 26, 36, 42, 44].

Учет влияния употребления пищи в основном ограничивается установлением периода времени, которое должно пройти после последнего приема пищи. Некоторые исследователи ограничивают время после употребления пищи 1–2 ч [28, 58, 75, 77], в других источниках условия не описаны [21, 22, 24], однако в основном пробы отбирают натощак [29, 39–41, 47, 49, 64], что является предпочтительным как с точки зрения качества анализа, так и с позиции простоты введения такого режима в клиническую практику (отбор проб для многих лабораторных исследований проводят натощак).

Наиболее надежным способом учета влияния экзогенных компонентов, попадающих в пробу из окружающего воздуха, является параллельный отбор пробы окружающего воздуха, что и осуществляли в ряде работ [28, 40, 64, 87]. Некоторые исследователи отбирали одну пробу окружающего воздуха в день отбора проб [35, 55]. В других публикациях указано количество проб окружающего воздуха, отобранных во время исследования [22, 29]. В большинстве работ указывается факт отбора проб окружающего воздуха, однако периодичность его отбора не представлена [24, 44, 49, 77, 91]. Вариативность учета влияния окружающего воздуха не ограничивается только периодичностью отбора проб окружающего воздуха; по-разному также осуществляют вычитание фоновых содержаний компонентов. Например, в работе [26] учитывали только те компоненты, содержания которых были на 10% больше, чем в окружающем воздухе, в исследованиях [87, 119] — на 15%, однако в большинстве работ, учитывают те компоненты, содержание которых в образце выдыхаемого воздуха было выше, чем в пробе окружающего воздуха.

\* \* \*

Анализируя имеющиеся на сегодняшний день результаты исследований по данной тематике, можно сформулировать основные проблемы, препятствующие разработке способа диагностики, достаточно надежного для внедрения в клиническую практику:

1. Недостаточно исчерпывающие знания о метаболических путях появления ЛОС в выдыхаемом воздухе, что не позволяет однозначно отнести те или иные ЛОС, обнаруженные в выдыхаемом воздухе, к биомаркерам рака легких.

2. Вариативность условий подготовки проб и анализа, в большинстве случаев не позволяющая сопоставлять результаты, полученные различными исследовательскими группами.

3. Существенная вариативность исследуемых групп добровольцев в разных исследованиях как с точки зрения объема выборки, так и относительно факторов, которые могут влиять на состав выдыхаемого воздуха: а) гистологический тип, стадия заболевания и статус лечения в группе пациентов с раком легких; б) возраст, пол, статус курения добровольцев; в) вариативность условий отбора проб: время после последнего курения и после последнего употребления пищи, время пребывания в помещении, где проводится отбор проб.

4. Вариативность учета влияния окружающего воздуха либо отсутствие данного пункта в большинстве исследований.

Для создания надежного диагностического теста ключевым вопросом остается идентификация исчерпывающего перечня биомаркеров, которые бы четко и надежно диагностировали заболевание, и определение диапазона их содержаний, что на сегодняшний день еще не решено. Проведенные исследования тканей и клеточных линий не дают четкого ответа на данный вопрос, поэтому в первую очередь необходимо искать альтернативные подходы доказательства появления ЛОС в выдыхаемом воздухе вследствие активности опухолевых тканей. С другой стороны, необходимо учитывать влияние всех факторов и обеспечивать максимально возможную идентичность сравниваемых групп по всем параметрам, не относящимся к заболеванию, а также учитывать возможную вариативность, обусловленную различными формами патологии.

Несмотря на множество вопросов, которые так и остаются открытыми, анализ выдыхаемого воздуха — это перспективный и весьма многообещающий способ неинвазивной диагностики рака легких, который может быть внедрен в клиническую практику для массовых обследований и выявления пациентов, которым необходимо дальнейшее детальное обследование, однако предстоит провести еще много работы для того чтобы создать диагностический тест и определить все граничные условия, в которых возможно получение надежных и точных результатов.

*Исследования проводились в рамках выполнения проекта № FZEN-2020-0022 Минобрнауки РФ и при финансовой поддержке РФФИ, проект № 20-33-90033, с использованием научного оборудования ЦКП “Эколого-аналитический центр” Кубанского государственного университета.*



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal, A., Bray, F.* Global cancer statistics 2020 // *CA Cancer J. Clin.* 2021. V. 71. № 1. P. 209.
2. *Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A.* Cancer statistics, 2020 // *CA Cancer J. Clin.* 2021. V. 71. № 1. P. 7.
3. *Black W.C., Gareen I. F., Soneji S.S., Sicks J.D., Keeler E.B., Aberle D.R., Naeim A., Church T.R., Silvestri G.A., Gorelick J., Gatsonis C.* Cost-effectiveness of CT screening in the National Lung Screening Trial // *N. Engl. J. Med.* 2014. V. 371. № 19. P. 1793.
4. *Borzuk A.C., Shah L., Pearson G.D. N., Walter K.L., Wang L., Austin J.H.M., Friedman R.A., Powell C.A.* Molecular signatures in biopsy specimens of lung cancer // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004. V. 170. № 2. P. 167.
5. *Mazzone P., Jain P., Arroliga A.C., Matthay R.A.* Bronchoscopy and needle biopsy techniques for diagnosis and staging of lung cancer // *Clin. Chest Med.* 2002. V. 23. № 1. P. 137.
6. *Zhang C., Leng W., Sun C., Lu T., Chen Z., Men X., Wang Y., Wang G., Zhen B., Qin J.* Urine proteome profiling predicts lung cancer from control cases and other tumors // *EBioMedicine.* 2018. V. 30. P. 120.
7. *Janssens E., Meerbeek J. P., Lamote K.* Volatile organic compounds in human matrices as lung cancer biomarkers: A systematic review // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2020. V. 153. Article 103037.
8. *Hayes S.A., Haefliger S., Harris B., Pavlakis N., Clarke S.J., Molloy M.P., Howell V.M.* Exhaled breath condensate for lung cancer protein analysis: A review of methods and biomarkers // *J. Breath Res.* 2016. V. 10. № 3. Article 034001.
9. *Nardi-Agmon I., Abud-Hawa M., Liran O., Gai-Mor N., Ilouze M., Onn A., Bar J., Shlomi D., Haick H., Peled N.* Exhaled breath analysis for monitoring response to treatment in advanced lung cancer // *J. Thorac. Oncol.* 2016. V. 11. № 6. P. 827.
10. *Antoniou S.X., Gaude E., Ruparel M., Schee M.P., Janes S.M., Rintoul R.C.* The potential of breath analysis to improve outcome for patients with lung cancer // *J. Breath Res.* 2019. V. 13. № 3. Article 034002.
11. *Dent A.G., Sutedja T.G., Zimmerman P.V.* Exhaled breath analysis for lung cancer // *J. Thorac. Dis.* 2013. V. 5. № 11. P. 2072.
12. *Marzorati D., Mainardi L., Sedda G., Gasparri R., Spaggiari L., Cervieri P.* A review of exhaled breath key role in lung cancer diagnosis // *J. Breath Res.* 2019. V. 13. № 3. Article 034001.
13. *Ratiu I.A., Ligor T., Bocos-Bintintan V., Mayhew C.A., Buszewski B.* Volatile organic compounds in exhaled breath as fingerprints of lung cancer, asthma and COPD // *J. Clin. Med.* 2020. V. 10. № 1. P. 32.
14. *Costello B.L., Amann A., Al-Kateb H., Flynn C., Filipiak W., Khalid T., Osborne D., Ratcliffe N.M.* A review of the volatiles from the healthy human body // *J. Breath Res.* 2014. V. 8. № 1. Article 014001.
15. *Buszewski B., Keszy M., Ligor T., Amann A.* Human exhaled air analytics: Biomarkers of diseases // *Biomed. Chromatogr.* 2007. V. 21. № 6. P. 553.
16. *Tang Y., Li Z., Lazar L., Fang Z., Tang C., Zhao J.* Metabolomics workflow for lung cancer: Discovery of biomarkers // *Clin. Chim. Acta.* 2019. V. 495. P. 436.
17. *Hakim M., Broza Y. Y., Barash O., Peled N., Phillips M., Amann A., Haick H.* Volatile organic compounds of lung cancer and possible biochemical pathways // *Chem. Rev.* 2012. V. 112. № 11. P. 5949.
18. *Preti G., Labows J.N., Kostelc J.G., Aldinger S. Daniele R.* Analysis of lung air from patients with bronchogenic carcinoma and controls using gas chromatography-mass spectrometry // *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. App.* 1988. V. 432. P. 1.
19. *Phillips M., Gleeson K., Hughes J.M.B., Greenberg J., Cataneo R.N., Baker L., McVay W.P.* Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: A cross-sectional study // *Early Report.* 1999. V. 353. № 9168. P. 1930.
20. *Rudnicka J., Walczak M., Kowalkowski T., Jezierski T., Buszewski B.* Determination of volatile organic compounds as potential markers of lung cancer by gas chromatography-mass spectrometry versus trained dogs // *Sens. Actuator B.* 2014. V. 202. P. 615.
21. *Ulanowska A., Kowalkowski T., Trawińska E., Buszewski B.* The application of statistical methods using VOCs to identify patients with lung cancer // *J. Breath Res.* 2011. V. 5. № 4. Article 046008.
22. *Poli D., Carbognani P., Corradi M., Goldoni M., Acampa O., Balbi B., Bianchi L., Rusca M., Mutti A.* Exhaled volatile organic compounds in patients with non-small cell lung cancer: Cross sectional and nested short-term follow-up study // *Respir. Res.* 2005. V. 6. № 1. P. 71.
23. *Rudnicka J., Kowalkowski T., Ligor T., Buszewski B.* Determination of volatile organic compounds as biomarkers of lung cancer by SPME-GC-TOF/MS and chemometrics // *J. Chromatogr. B.* 2011. V. 879. № 30. P. 3360.
24. *Fuchs P., Loeseken C., Schubert J.K., Miekisch W.* Breath gas aldehydes as biomarkers of lung cancer // *Int. J. Cancer.* 2009. V. 126. P. 2663.
25. *Poli D., Goldoni M., Corradi M., Acampa O., Carbognani P., Internullo E., Casalini A., Mutti A.* Determination of aldehydes in exhaled breath of patients with lung cancer by means of on-fiber-derivatization SPME-GH/MS // *J. Chromatogr. B.* 2010. V. 878. № 27. P. 2643.
26. *Buszewski B., Ligor T., Jezierski T., Wenda-Piesik A., Walczak M., Rudnicka J.* Identification of volatile lung cancer markers by gas chromatography-mass spectrometry: Comparison with discrimination by canines // *Anal. Bioanal. Chem.* 2012. V. 404. № 1. P. 141.
27. *Ligor T., Ligor M., Amann A., Ager C., Bachler M., Dzien A., Buszewski B.* The analysis of healthy volunteers' exhaled breath by the use of solid-phase microextraction and GC-MS // *J. Breath Res.* 2008. V. 2. № 4. Article 046006.
28. *Ligor T., Pater L., Buszewski B.* Application of an artificial neural network model for selection of potential lung cancer biomarkers // *J. Breath Res.* 2015. V. 9. № 2. Article 027106.
29. *Song G., Qin T., Liu H., Xu G.B., Pan Y.Y., Xiong F.X., Gu K.S., Sun G.P., Chen Z.D.* Quantitative breath analysis of volatile organic compounds of lung cancer patients // *Lung Cancer.* 2010. V. 67. № 2. P. 227.
30. *Miekisch W., Kischkel S., Sawacki A., Liebau T., Mieth M., Schubert J. K.* Impact of sampling procedures on the results of breath analysis // *J. Breath Res.* 2008. V. 2. № 2. Article 026007.
31. *Velde S., Quirynen M., Hee P., Steenberghe D.* Differences between alveolar air and mouth air // *Anal. Chem.* 2007. V. 79. № 9. P. 3425.

32. *Dragonieri S., Annema J.T., Schot R., Schee M.P.C., Spanevello A., Carratu P., Resta O., Rabe K.F., Sterk P.J.* An Electronic nose in the discrimination of patients with non-small cell lung cancer and COPD // *Lung Cancer*. 2009. V. 64. № 2. P. 166.
33. *O'Hara M.E., O'Hehir S., Green S., Mayhew C.A.* Development of a protocol to measure volatile organic compounds in human breath: A comparison of re-breathing and on-line single exhalations using proton transfer reaction mass spectrometry // *Physiol. Meas.* 2008. V. 29. № 3. P. 309.
34. *Steeghs M.M.L., Cristescu S.M., Harren F.J.M.* The suitability of tedlar bags for breath sampling in medical diagnostic research // *Physiol. Meas.* 2007. V. 28. № 1. P. 73.
35. *Gashimova E., Temerdashev A., Porkhanov V., Polyakov I., Perunov D., Azaryan A., Dmitrieva E.* Investigation of different approaches for exhaled breath and tumor tissue analyses to identify lung cancer biomarkers // *Helvion*. 2020. V. 6. № 6. Article e04224.
36. *Pesesse R., Stefanuto P.H., Schleich F., Louis R., Focant J.F.* Multimodal chemometric approach for the analysis of human exhaled breath in lung cancer patients by TD-GC × GC-TOFMS // *J. Chromatogr. B*. 2019. V. 1114–1115. P. 146.
37. *Горбунов И.С., Губаль А.Р., Ганеев А.А., Родинков О.В., Карцова Л.А., Бессонова Е.А., Арсеньев А.И., Нефедов А.О., Краева Л.А.* Оптимизация условий анализа выдыхаемого воздуха методом газовой хроматографии—масс-спектрометрии для целей неинвазивной диагностики рака легких // *Журн. аналит. химии*. 2019. Т. 74. № 11. С. 870.
38. *Tsou P.H., Lin Z.L., Pan Y.C., Yang H.C., Chang C.J., Liang S.K., Wen Y.F., Chang C.H., Chang L.Y., Yu K.L., Liu C.J., Keng L.T., Lee M. R., Ko J.C., Huang G.H., Li Y.K.* Exploring volatile organic compounds in breath for high-accuracy prediction of lung cancer // *Cancers*. 2021. V. 13. № 6. P. 1431.
39. *Gasparri R., Santonicu M., Valentini C., Sedda G., Borri A., Petrella F., Maisonneuve P., Pennazza G., D'Amico A., Natale C.D., Paolesse R., Spaggiari L.* Volatile signature for the early diagnosis of lung cancer // *J. Breath Res.* 2016. V. 10. № 1. Article 016007.
40. *Wang Y., Hu Y., Wang D., Yu K., Wang L., Zou Y., Zhao C., Zhang X., Wang P., Ying K.* The analysis of volatile organic compounds biomarkers for lung cancer in exhaled breath, tissues and cell lines // *Cancer Biomark.* 2012. V. 11. № 4. P. 129.
41. *Saidi T., Moufid M., Beleño-Saenz K.J., Welearegay T.G., Bari N.E., Jaimes-Mogollon A.L., Ionescu R., Bourkadi J.E., Benamor J., Ftouh M.E., Bouchikhi B.* Non-invasive prediction of lung cancer histological types through exhaled breath analysis by UV-irradiated electronic nose and GC/QTOF/MS // *Sens. Actuators B: Chem.* 2020. V. 311. Article 127932.
42. *Wang C., Long Y., Li W., Dai W., Xie S., Liu Y., Zhang Y., Liu M., Tian Y., Li Q., Duan Y.* Exploratory study on classification of lung cancer subtypes through a combined k-nearest neighbor classifier in breathomics // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. № 1. P. 5880.
43. *Callol-Sanchez L., Munoz-Lucas M. A., Gomez-Martin O., Maldonado-Sanz J.A., Civera-Tejuca C., Gutierrez-Ortega C., Rodriguez-Trigo G., Jareno-Esteban J.* Observation of nonanoic acid and aldehydes in exhaled breath of patients with lung cancer // *J. Breath Res.* 2017. V. 11. № 2. Article 026004.
44. *Rudnickaa J., Kowalkowskia T., Buszewski B.* Searching for selected VOCs in human breath samples as potential markers of lung cancer // *Lung Cancer*. 2019. V. 135. P. 123.
45. *Mazzone P.J., Wang X.F., Lim S., Jett J., Choi H., Zhang Q., Beukemann M., Seeley M., Martino R., Rhodes P.* Progress in the development of volatile exhaled breath signatures of lung cancer // *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2015. V. 12. № 5. P. 752.
46. *Phillips M.* Method for the collection and assay of volatile organic compounds in breath // *Anal. Biochem.* 1997. V. 247. № 2. P. 272.
47. *Wang M., Sheng J., Wu Q., Zou Y., Hu Y., Ying K., Wan H., Wang P.* Confounding effect of benign pulmonary diseases in selecting volatile organic compounds as markers of lung cancer // *J. Breath Res.* 2018. V. 12. № 4. Article 046013.
48. *Phillips M., Bauer T.L., Cataneo R.N., Lebauer C., Mundada M., Pass H.I., Ramakrishna N., Rom W.N., Vallieres E.* Blinded validation of breath biomarkers of lung cancer, a potential ancillary to chest ct screening // *PLoS One*. 2015. V. 10. № 12. Article e0142484.
49. *Zou Y., Wang Y., Jiang Z., Zhou Y., Chen Y., Hu Y., Jiang G., Xie D.* Breath profile as composite biomarkers for lung cancer diagnosis // *Lung Cancer*. 2021. V. 154. P. 206.
50. *Zou Y., Zhang X., Chen X., Hu Y., Ying K., Wang P.* Optimization of volatile markers of lung cancer to exclude interferences of non-malignant disease // *Cancer Biomark.* 2014. V. 14. № 5. P. 371.
51. *Jouyban A., Djozan D., Mohammadandashti P., Alizadeh-Nabil A., Ghorbanpour H., Khoubnasabjafari M., Mohammadzadeh M.* Co-liquefaction with acetone and GC analysis of volatile compounds in exhaled breath as lung cancer biomarkers // *BioImpacts*. 2017. V. 7. № 2. P. 99.
52. *Phillips M., Cataneo R.N., Cummin A.R.C., Gagliardi A.J., Gleeson K., Greenberg J., Maxfield R.A., Rom W.N.* Detection of lung cancer with volatile markers in the breath // *Chest*. 2003. V. 123. № 6. P. 2115.
53. *Phillips M., Altorki N., Austin J.H., Cameron R.B., Cataneo R.N., Greenberg J., Kloss R., Maxfield R.A., Munawar M.I., Pass H.I., Rashid A., Rom W.N., Schmitt P.* Prediction of lung cancer using volatile biomarkers in breath // *Cancer Biomark.* 2007. V. 3. № 2. P. 95.
54. *Schallschmidt K., Becker R., Jung C., Bremser W., Walles T., Neudecker J., Leschber G., Frese S., Nehls I.* Comparison of volatile organic compounds from lung cancer patients and healthy controls—Challenges and limitations of an observational study // *J. Breath Res.* 2016. V. 10. № 4. Article 046007.
55. *Broza Y.Y., Kremer R., Tisch U., Gevorkyan A., Shiban A., Best L.A., Haick H.A.* Nanomaterial-based breath test for short-term follow-up after lung tumor resection // *Nanomedicine: Nanotechnol. Biol. Med.* 2013. V. 9. № 1. P. 15.
56. *Peled N., Hakim M., Bunn P.A., Miller Y.E., Kennedy T.C., Mattei J., Mitchell J.D., Hirsch F.R., Haick H.* Non-invasive breath analysis of pulmonary nodules // *J. Thorac. Oncol.* 2012. V. 7. № 10. P. 1528.
57. *Garcia R.A., Morales V., Martin S., Vilches E., Toledano A.* Volatile organic compounds analysis in breath air in healthy volunteers and patients suffering epidermoid laryngeal carcinomas // *Chromatographia*. 2014. V. 77. № 5–6. P. 501.

58. *Filipiak W., Filipiak A., Sponring A., Schmid T., Zelger B., Ager C., Klodzinska E., Denz H., Pizzini A., Lucciarini P., Jamnig H., Troppmair J., Amann A.* Comparative analyses of volatile organic compounds (VOCs) from patients, tumors and transformed cell lines for the validation of lung cancer-derived breath markers // *J. Breath Res.* 2014. V. 8. № 2. Article 027111.
59. *Svensson S., Larstad M., Broo K., Olin A.* Determination of aldehydes in human breath by on-fibre derivatization, solid-phase microextraction and GC-MS // *J. Chromatogr. B.* 2007. V. 860. № 1. P. 86.
60. *Fu X., Li M., Biswas S., Nantz M.H., Higashi R.M. A* Novel microreactor approach for analysis of ketones and aldehydes in breath // *The Analyst.* 2011. V. 136. № 22. P. 4662.
61. *Fu X., Li M., Knipp R.J., Nantz M.H., Bousamra M.* Noninvasive detection of lung cancer using exhaled breath // *Cancer Med.* 2014. V. 3. № 1. P. 174. <https://doi.org/10.1002/cam4.162>
62. *Yu L.Q., Wang L.Y., Su F.H., Hao P.Y., Wang H., Lv Y.K.* A gate-opening controlled metal-organic framework for selective solid-phase microextraction of aldehydes from exhaled breath of lung cancer patients // *Microchim. Acta.* 2018. V. 185. № 6. P. 307.
63. *Wang W., Yu Y., Zhang X., Tong X.* Laboratory analytical methods applied in the early detection of cancers by tumor biomarker // *Anal. Methods.* 2017. V. 9. № 21. P. 3085.
64. *Phillips M., Altorki N., Austin J.H.M., Cameron R.B., Cataneo R.N., Kloss R., Maxfield R.A., Munawar M.I., Pass H.I., Rashid A., Romi W.N., Schmitt P., Wai J.* Detection of lung cancer using weighted digital analysis of breath biomarkers // *Clin. Chim. Acta.* 2008. V. 393. № 2. P. 76.
65. *Koureas M., Kirgou P., Amoutzias G., Hadjichristodoulou C., Gourgoulis K., Tsakalof A.* Target analysis of volatile organic compounds in exhaled breath for lung cancer discrimination from other pulmonary diseases and healthy persons // *Metabolites.* 2020. V. 10. № 8. P. 317.
66. *Bajtarevic A., Ager C., Pienz M., Klieber M., Schwar K., Ligor M., Ligor T., Filipiak W., Denz H., Fieg M., Hilbe W., Weiss W., Lukas P., Jamnig H., Hack M., Haidenberger A., Buszewski B., Miekisch W., Schubert J., Amann A.* Noninvasive detection of lung cancer by analysis of exhaled breath // *BMC Cancer.* 2009. V. 9. Article 348.
67. *Handa H., Usuba A., Maddula S., Baumbach J.I., Mineshita M., Miyazawa T.* Exhaled breath analysis for lung cancer detection using ion mobility spectrometry // *PLoS One.* 2014. V. 9. № 12. Article e114555.
68. *Pleil J.D., Hansel A., Beauchamp J.* Advances in proton transfer reaction mass spectrometry (PTR-MS): Applications in exhaled breath analysis, food science, and atmospheric chemistry // *J. Breath Res.* 2019. V. 13. № 3. Article 039002.
69. *Spanel P., Smith D.* Progress in SIFT-MS: Breath analysis and other applications // *Mass Spectrom. Rev.* 2011. V. 30. № 2. P. 236.
70. *Hashoul D., Haick H.* Sensors for detecting pulmonary diseases from exhaled breath // *Eur. Respir. Rev.* 2019. V. 28. № 152. Article 190011.
71. *Khanmohammadi A., Aghaie A., Vahedi E., Qazvini A., Ghanei M., Afkhami A., Hajian A., Bagheri H.* Electrochemical biosensors for the detection of lung cancer biomarkers: A Review *Talanta* // 2020. V. 206. Article 120251.
72. *Shirasu M., Touhara K.* Every breath you take: The value of the electronic nose (e-nose) technology in the early detection of lung cancer // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2018. V. 155. № 6. P. 2622.
73. *Kort S., Brusse-Keizer M., Gerritsen J. W., Schouwink H., Citgez E., Jongh F. Maten J., Samii S., Bogart M., Palen J.* Improving lung cancer diagnosis by combining exhaled-breath data and clinical parameters // *ERJ Open Res.* 2020. V. 6. № 1. P. 00221.
74. *Goor R., Hooren M., Dingemans A.M., Kremer B., Kross K.* Training and validating a portable electronic nose for lung cancer screening // *J. Thorac. Oncol.* 2018. V. 13. № 5. P. 676.
75. *Kononov A., Korotetsky B., Jahatspanian I., Gubal A., Vasiliev A., Arsenjev A., Nefedov A., Barchuk A., Gorbunov I., Kozyrev K., Rassadina A., Iakovleva E., Silanpaa M., Safaei Z., Ivanenko N., Stolyarova N., Chuchina V., Ganeev A.* Online breath analysis using metal oxide semiconductor sensors (electronic nose) for diagnosis of lung cancer // *J. Breath Res.* 2019. V. 14. № 1. Article 016004.
76. *Chang J., Lee D., Ban S., Oh J., Jung M.Y., Kim S., Park S., Persaud K., Jheon S.* Analysis of volatile organic compounds in exhaled breath for lung cancer diagnosis using a sensor system // *Sens. Actuators B: Chem.* 2018. V. 255. № 1. P. 800.
77. *Nardi-Agmon I., Abud-Hawa M., Liran O., Gai-Mor N., Ilouze M., Onn A., Bar J., Shlomi D., Haick H., Peled N.* Exhaled breath analysis for monitoring response to treatment in advanced lung cancer // *J. Thorac. Oncol.* 2016. V. 11. № 6. P. 827.
78. *Rodriguez-Aguilar M., Diaz de Leon-Martinez L., Gorcica-Rosete P., Perez-Padilla R., Dominguez-Reyes C.A., Tenorio-Torres J.A., Ornelas-Rebolledo O., Mehta G., Zamora-Mendoza B.N., Flores-Ramirez R.* Application of chemoresistive gas sensors and chemometric analysis to differentiate the fingerprints of global volatile organic compounds from diseases. Preliminary results of COPD, lung cancer and breast cancer // *Clin. Chim. Acta.* 2021. V. 518. P. 83.
79. *Hubers A.J., Brinkman P., Boksem R.J., Rhodius R.J., Witte B.I., Zwinderman A.H., Heideman D.A.M., Duin S., Koning R., Steenbergen R.D.M., Snijders P.J.F., Smit E.F., Sterk P.J., Thunnissen E.* Combined sputum hypermethylation and enose analysis for lung cancer diagnosis // *J. Clin. Pathol.* 2014. V. 67. № 8. P. 707.
80. *Tirzite M., Bukovskis M., Strazda G., Jurka N., Taivans I.* Detection of lung cancer with electronic nose and logistic regression analysis // *J. Breath Res.* 2018. V. 13. № 1. Article 016006.
81. *Natale C., Macagnano A., Martinelli E., Paolesse R., D'Arcangelo G., Roscioni C., Finazzi-Agro A., D'Amico A.* Lung cancer identification by the analysis of breath by means of an array of non-selective gas sensors // *Biosens. Bioelectron.* 2003. V. 18. № 10. P. 1209.
82. *D'Amico A., Pennazzab G., Santonico M., Martinelli E., Roscioni C., Galluccio G., Paolesse R., Natalea C.D.* An investigation on electronic nose diagnosis of lung cancer // *Lung Cancer.* 2010. V. 68. № 2. P. 170.
83. *Zhong X., Li D., Du W., Yan M., Wang Y., Huo D., Hou C.* Rapid recognition of volatile organic compounds with colorimetric sensor arrays for lung cancer screening // *Anal. Bioanal. Chem.* 2018. V. 410. № 16. P. 3671.

84. *Mazzone P.J., Wang X.F., Xu Y., Mekhail T., Beuke-mann M.C., Na J., Kemling J.W., Suslick K.S., Sasi-dhar M.* Exhaled breath analysis with a colorimetric sensor array for the identification and characterization of lung cancer // *J. Thorac. Oncol.* 2012. V. 7. № 1. P. 137.
85. *Li W., Liu H., Xie D., He Z., Pi X.* Lung cancer screening based on type-different sensor arrays // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. № 1. Article 1969.
86. *Liu B., Yu H., Zeng X., Zhang D., Gong J., Tian L., Qian J., Zhao L., Zhang S., Liu R.* Lung cancer detection via breath by electronic nose enhanced with a sparse group feature selection approach // *Sens. Actuators B: Chem.* 2021. V. 339. Article 129896.
87. *Ligor M., Ligor T., Bajtarevic A., Ager C., Pienz M., Klieber M., Denz H., Fiegl M., Hilbe W., Weiss W., Lukas P., Jamnig H., Hackl M., Buszewski B., Miekisch W., Schubert J., Amann A.* Determination of volatile organic compounds in exhaled breath of patients with lung cancer using solid phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry // *J. Clin. Chem. Lab. Med.* 2009. V. 47. № 5. P. 550.
88. *Corradi M., Poli D., Banda I., Bonini S., Mozzoni P., Pinelli S., Alinovi R., Andreoli R., Ampollini L., Casalini A., Carbognani P., Goldoni M., Mutti A.* Exhaled breath analysis in suspected cases of non-small-cell lung cancer: A cross-sectional study // *J. Breath Res.* 2015. V. 9. № 2. Article 027101.
89. *Bousamra M., Schumer E., Li M., Knipp R.J., Nantz M.H., Berkel V., Fu X.A.* Quantitative analysis of exhaled carbonyl compounds distinguishes benign from malignant pulmonary disease // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2014. V. 148. № 3. P. 1074.
90. *Fu X., Li M., Knipp R.J., Nantz M.H., Bousamra M.* Noninvasive detection of lung cancer using exhaled breath // *Cancer Med.* 2014. V. 3. № 1. P. 174.
91. *Sakumura Y., Koyama Y., Tokutake H., Hida T., Sato K., Itoh T., Akamatsu T., Shin W.* Diagnosis by volatile organic compounds in exhaled breath from lung cancer patients using support vector machine algorithm // *Sensors.* 2017. V. 17. № 287. Article 287.
92. *Meng S., Li Q., Zhou Z., Li H., Liu X., Pan S., Li M., Wang L., Guo Y., Qiu M., Wang J.* Assessment of an exhaled breath test using high-pressure photon ionization time-of-flight mass spectrometry to detect lung cancer // *JAMA Netw. Open.* 2021. V. 4. № 3. Article e213486.
93. *Westhoff M., Litterst P., Freitag L., Urfer W., Bader S., Baumbach J.I.* Ion mobility spectrometry for the detection of volatile organic compounds in exhaled breath of patients with lung cancer: Results of a pilot study // *Thorax.* 2009. V. 64. № 9. P. 744.
94. *Lamote K., Vynck M., Thas O., Cleemput J., Nackaerts K., Meerbeek J.P.* Exhaled breath to screen for malignant pleural mesothelioma: A validation study // *Eur. Respir. J.* 2017. V. 50. № 6. Article 1700919.
95. *Wehinger A., Schmid A., Mechtcheriakov S., Ledochowski M., Grabmer C., Gastl G.A., Amann A.* Lung cancer detection by proton transfer reaction mass-spectrometric analysis of human breath gas // *Int. J. Mass Spectrom.* 2007. V. 265. P. 49.
96. *Sun Y., Chen Y., Sun C., Liu H., Wang Y., Jiang X.* Analysis of volatile organic compounds from patients and cell lines for the validation of lung cancer biomarkers by proton-transfer-reaction mass spectrometry // *Anal. Methods.* 2019. V. 11. P. 3188.
97. *Tirzite M., Bukovskis M., Strazda G., Jurka N., Taivans I.* Detection of lung cancer in exhaled breath with an electronic nose using support vector machine analysis // *J. Breath Res.* 2017. V. 11. № 3. Article 036009.
98. *Chang J.E., Lee D.S., Ban S.W., Oh J., Jung M.Y., Kim S.H., Park S.J., Persaud K., Jheon S.* Analysis of volatile organic compounds in exhaled breath for lung cancer diagnosis using a sensor system // *Sens. Actuators B: Chem.* 2018. V. 255. P. 800.
99. *Gashimova E., Osipova A., Temerdashev A., Porkhanov V., Polyakov I., Perunov D., Dmitrieva E.* Exhaled breath analysis using GC-MS and an electronic nose for lung cancer diagnostics // *Anal. Methods.* 2021. V. 13. P. 4793.
100. *Rocco R., Incalzi R.A., Pennazza G., Santonico M., Pedone C., Bartoli I.R., Vernile C., Mangiameli G., La Rocca A., De Luca G., Rocco G., Crucitti P.* BIONOTE E-nose technology may reduce false positives in lung cancer screening programmes // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2016. V. 49. № 4. P. 1112.
101. *Peng G., Hakim M., Broza Y.Y., Billan S., Abdah-Bortnyak R., Kuten A., Tisch U., Haick H.* Detection of lung, breast, colorectal, and prostate cancers from exhaled breath using a single array of nanosensors // *Br. J. Cancer* 2010. V. 103. № 4. P. 542.
102. *Mazzone P. J., Hammel J., Dweik R., Na J., Czich C., Laskowski D., Mekhail T.* Diagnosis of lung cancer by the analysis of exhaled breath with a colorimetric sensor array // *Thorax.* 2007. V. 62. № 7. P. 565.
103. *Kort S., Tiggeloven M.M., Brusse-Keizer M., Gerritsen J.W., Schouwink J.H., Citez E., Jongh F.H.C., Samii S., Maten J., Bogart M., Palen J.* Multi-centre prospective study on diagnosing subtypes of lung cancer by exhaled-breath analysis // *Lung Cancer.* 2018. V. 125. P. 223.
104. *Gashimova E., Temerdashev A., Porkhanov V., Polyakov I., Perunov D., Osipova A., Dmitrieva E.* Assessment of a possibility to differentiate the tumor histological type and localization in patients with lung cancer by the composition of exhaled air // *J. Anal. Chem.* 2021. V. 76. № 8. P. 975.
105. *Chen X., Xu F., Wang Y., Pan Y., Lu D., Wang P., Ying K., Chen E., Zhang W.* A study of the volatile organic compounds exhaled by lung cancer cells in vitro for breath diagnosis // *Cancer.* 2007. V. 110. № 4. P. 835.
106. *Bianchi F., Riboni N., Carbognani P., Gnetti L., Dalcanale E., Ampollini L., Careri M.* Solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry followed by multivariate data analysis for the identification of volatile organic compounds as possible biomarkers in lung cancer tissues // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2017. V. 146. P. 329.
107. *Barash J., Peled N., Tisch U., Bunn P.A. Jr, Hirsch F.R., Haick H.* Classification of lung cancer histology by gold nanoparticle sensors // *Nanomedicine.* 2012. V. 8. № 5. P. 580.
108. *Lamote K., Vynck M., Thas O., Cleemput J., Nackaerts K., Meerbeek J.P.* Exhaled breath to screen for malignant pleural mesothelioma: A validation study // *Eur. Respir. J.* 2017. V. 50. № 6. Article 1700919.
109. *Buszewski B., Ulanowska A., Ligor T., Denderza N., Amann A.* Analysis of exhaled breath from smokers, passive smokers and non-smokers by solid phase microextraction gas chromatography mass spectrometry // *Biomed. Chromatogr.* 2008. V. 23. P. 551.

110. *Filipiak W., Ruzsanyi V., Mochalski P., Filipiak A., Bajtarevic A., Ager C., Denz H., Hilbe W., Jamnig H., Hack M., Dzien A., Amann A.* Dependence of exhaled breath composition on exogenous factors smoking habits and exposure to air pollutants // *J. Breath Res.* 2012. V. 6. № 3. Article 036008.
111. *Chen X., Wang F., Lin L., Dong H., Huang F., Muhammad K.G., Chen L., Gorlova O.Y.* Association of smoking with metabolic volatile organic compounds in exhaled breath // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. V. 18. № 11. P. 2235.
112. *Papaefstathiou E., Stylianou M., Andreou C., Agapiou A.* Breath analysis of smokers, non-smokers, and e-cigarette users // *J. Chromatogr. B.* 2020. V. 1160. Article 122349.
113. *Blanchet L.; Smolinska A., Baranska A., Tigchelaar E., Swertz M., Zhernakova A., Dallinga J. W., Wijmenga C., Schooten F.J.* Factors that influence the volatile organic compound content in human breath // *J. Breath Res.* 2017. V. 11. № 1. Article 016013.
114. *Spanel P., Dryahina K., Rejskova A., Chippendale T.W.E., Smith D.* Breath acetone concentration; biological variability and the influence of diet // *Physiol. Meas.* 2011. V. 32. № 8. P. N23.
115. *Raninen K.J., Lappi J.E., Mukkala M.L., Tuomainen T., Mykkanen H.M., Poutanen K.S., Raatikainen O.J.* Fiber content of diet affects exhaled breath volatiles in fasting and postprandial state in a pilot crossover study // *Nutr. Res.* 2016. V. 36. № 6. P. 612.
116. *Aghdassi E., Allard J.P.* Breath alkanes as a marker of oxidative stress in different clinical conditions // *Free Radic. Biol. Med.* 2000. V. 36. № 6. P. 612.
117. *Phillips M., Cataneo R.N., Greenberg J., Gunawardena R., Naidu A., Rahbari-Oskoui F.* Effect of age on the breath methylated alkane contour, a display of apparent new markers of oxidative stress // *J. Lab. Clin. Med.* 2000. V. 136. № 3. P. 243.
118. *Lechner M., Moser B., Niederseer D., Karlseder A., Holzkecht B., Fuchs M., Colvin S., Tilg H., Rieder J.* Gender and age specific differences in exhaled isoprene levels // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2006. V. 154. № 3. P. 478.
119. *Gashimova E., Osipova A., Temerdashev A., Porkhanov V., Polyakov I., Perunov D., Dmitrieva E.* Study of confounding factors influence on lung cancer diagnostics effectiveness using gas chromatography–mass spectrometry analysis of exhaled breath // *Biomark. Med.* 2021. V. 15. № 11. P. 821.

УДК 543.544

## АМИНОСПИРТЫ: ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ТОКСИЧНЫХ ХИМИКАТОВ

© 2022 г. С. С. Алексенко<sup>а</sup>, И. В. Новикова<sup>а</sup>, Р. И. Новиков<sup>а</sup>,  
Ж. В. Смирнова<sup>а</sup>, \*, В. Б. Кондратьев<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Государственный научно-исследовательский институт органической химии и технологии (ГосНИИОХТ),  
Центральная лаборатория по химико-аналитическому контролю за работами в области химического разоружения  
шоссе Энтузиастов, 23, Москва, 111024 Россия

\*e-mail: smirnova@gosniiocht.ru

Поступила в редакцию 10.11.2021 г.

После доработки 19.11.2021 г.

Принята к публикации 20.11.2021 г.

Рассмотрены публикации за последние 20 лет, посвященные современным методам определения аминоспиртов как маркеров азотсодержащих токсичных химикатов. Акцентировано внимание на сочетании методов газовой и жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием для разделения и идентификации как интактных продуктов деструкции, так и, преимущественно, их силильных и ацильных производных. Обобщены данные по условиям реакций дериватизации, применяемым реагентам, условиям ГХ- и ВЭЖХ-определения аминоспиртов. Отмечены современные подходы к пробоподготовке воды, почвы, биопроб, включающие жидкофазную микроэкстракцию в полом волокне, твердофазную экстракцию (ТФЭ), твердофазную микроэкстракцию, магнитно-дисперсионную ТФЭ с использованием наночастиц, дисперсионную экстракцию с одновременной дериватизацией в матрице, дериватизацию на твердом сорбенте с термодесорбцией.

**Ключевые слова:** продукты деструкции, токсичные химикаты, аминоспирты, дериватизация, газовая хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрическое детектирование, капиллярный электрофорез, Конвенция о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия.

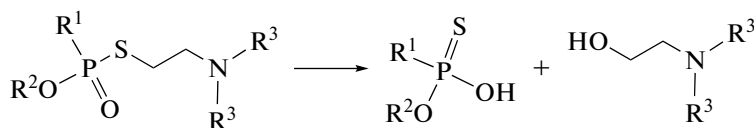
**DOI:** 10.31857/S0044450222070027

### АЗОТСОДЕРЖАЩИЕ ТОКСИЧНЫЕ ХИМИКАТЫ

Азотистыми ипритами называют группу β-хлорзамещенных аминов, обладающих кожно-нарывным и общедовитым действием, близким к сернистому иприту (рис. 1). Наиболее токсичными представителями являются трис(β-хлорэтил)амин (NH3), N-метил-N,N-бис(β-хлорэтил)амин (NH2) и N-этил-N,N-бис(β-хлорэтил)амин (NH1). Краткий обзор данных по стабильности и реакционной способности разных ипритов приведен в работе [1]. При попадании в окружающую среду азотистые иприты постепенно гидролизуются с образованием соответствующих β-аминоспиртов [2, 3]. Согласно данным [4], в воде в следовых количествах уже через 3 ч после экспозиции NH1 детектируется продукт деструкции N-этилдизэтаноламин (ЭДЭА), N-метилдизэтаноламин (МДЭА) (продукт деструкции NH2) определяется через 2.5 ч, а триэтаноламин (ТЭА) (продукт деструкции NH3) — через 72 ч после заражения. Аналогичные продукты трансформации могут наблюдаться и в живых

организмах. Так, МДЭА, ЭДЭА и ТЭА (при условии экспозиции NH1, NH2, NH3) детектируются в моче крыс через 24–48 ч [5]. При этом стоит иметь в виду, что содержание ТЭА в моче человека может быть фоновым и достигать 6500 нг/мл [5].

Соединения класса V-газов (фосфорилтиохалины) — токсичные химикаты (ТХ) нервно-паралитического действия, способные необратимо связывать и инактивировать ацетилхолинэстеразу — фермент, регулирующий процесс передачи нервных импульсов. Известны несколько случаев применения одного из самых токсичных представителей данного класса — S-(2-N,N-диизопропиламиноэтил)-O-этилметилфосфонотиолата (VX) террористическими группами (1994, 1995, 2017 гг.). В результате гидролиза соединений класса V-газов в слабощелочной среде по связи S—C образуются соответствующие β-N,N-диалкилэтанолламины, которые также являются прекурсорами при синтезе V-газов [6–8] (схема 1):



$R^1, R^3 = -CH_3; -C_2H_5; -C_3H_7; -i-C_3H_7; R^2 = H$  или  $C_1-C_{10}$  (алкил, циклоалкил)

Схема 1. Гидролиз V-газов в слабощелочной среде.

Инкапситурующий агент хинуклидил-3-бензилат (**BZ**) представляет собой антихолинергическое соединение, которое действует как на периферическую, так и центральную нервную систему [9]. В объектах окружающей среды **BZ** под воздействием влаги постепенно гидролизует до исходных соединений – бензиловой кислоты и 3-хинуклидиола [10]. Авторами работы [11] 3-хинуклидиол обнаружен в моче животных, подвергшихся воздействию **BZ**.

### МАРКЕРЫ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ТОКСИЧНЫХ ХИМИКАТОВ

Поскольку токсичные химикаты в большинстве случаев относятся к нестойким органическим соединениям, необходимо создавать и совершенствовать лабораторные методы определения в различных объектах долгоживущих продуктов деструкции ТХ и их реакционных продуктов, получивших общее название “маркеров” ТХ [12]. Маркерами азотсодержащих токсичных химикатов (V-газов, азотистых ипритов и **BZ**) являются аминоспирты – прекурсоры и продукты их трансформации, способные сохраняться в объектах окружающей среды в неизменном виде продолжительное время. В связи с этим задача их идентификации важна при проведении химико-аналитических исследований по выявлению и расследованию случаев нелегальной деятельности в области производства, применения и хранения ТХ.

Вместе с тем аминоспирты – это исходные материалы в производстве гербицидов, эмульгаторов,

детергентов, бактерицидных и косметических средств [13]. Водные растворы аминоспиртов используются в нефтегазовой промышленности для нейтрализации токсичных уровней серосодержащих соединений, таких как сероводород и сероуглерод, образующихся после конденсации природного газа [14]. Неэффективное удаление и/или ненадлежащая утилизация аминоспиртов может стать причиной неблагоприятного влияния на окружающую среду и здоровье человека. Таким образом, загрязнение аминоспиртами в результате антропогенной деятельности человека делает необходимым контроль их содержания в объектах окружающей среды.

В Приложение по химикатам Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении (далее Конвенция) [15] включены 11 аминоспиртов (рис. 2), подлежащих контролю (Списки 2.В и 3.В). На рис. 2 приведены структурные формулы  $\beta$ -аминоспиртов, включенных в Приложение по химикатам Конвенции.

Газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием (**ГХ-МС**) широко применяется для определения  $\beta$ -аминоспиртов, поскольку позволяет эффективно разделять многокомпонентные смеси, а также обеспечивает надежную идентификацию аналитов с использованием библиотек масс-спектров. При этом в пробоподготовке продуктов деструкции азотсодержащих ТХ используется множество традиционных методов и современных подходов: жидкостно-жидкостная экстракция [16], жидко-фазная микроэкстракция (**ЖФМЭ**) в полом во-

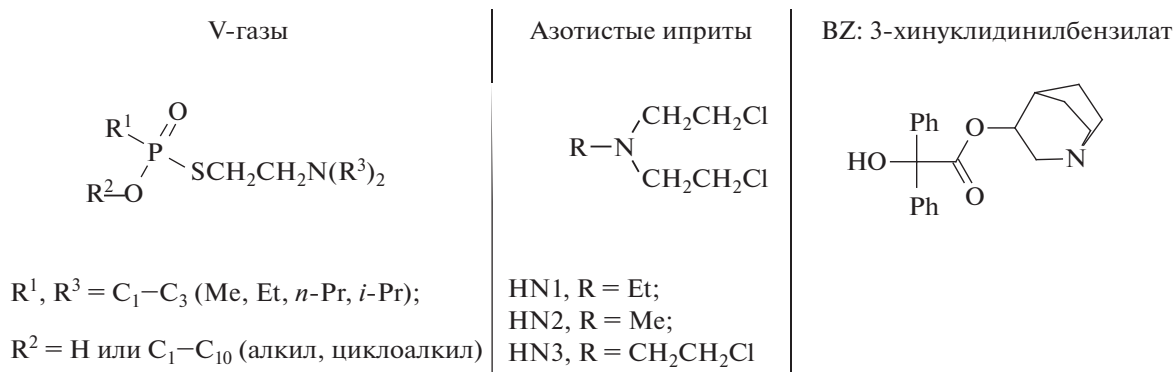


Рис. 1. Структурные формулы азотсодержащих токсичных химикатов.

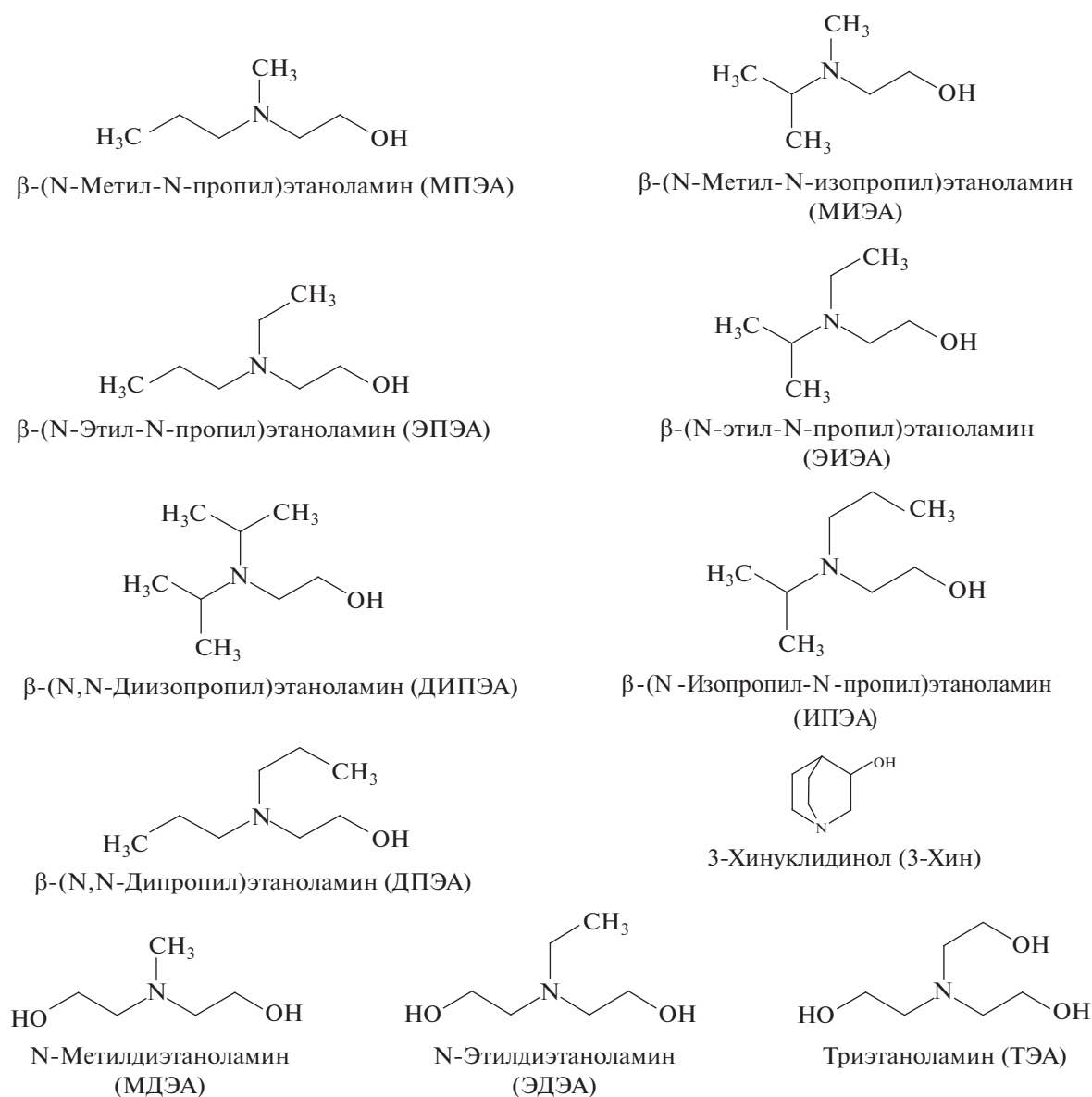


Рис. 2. Структурные формулы β-аминоспиртов – прекурсоров и продуктов деструкции азотсодержащих токсичных химикатов.

локне [17, 18], твердофазная экстракция (ТФЭ) [19], твердофазная микроэкстракция (ТФМЭ) [17], магнитно-дисперсионная ТФЭ [20, 21], дисперсионная экстракция с одновременной дериватизацией в матрице [22], дериватизация на твердом сорбенте с термодесорбцией [23].

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ β-АМИНОСПИРТОВ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

В процессе подготовки образцов воды, почвы, биоматериалов и др. необходимо перевести определяемые компоненты в среду органического растворителя, добиться максимальной эффективности извлечения аминосспиртов и исключе-

ния мешающего влияния матрицы. Согласно рекомендованным операционным процедурам [6], ТХ и продукты их деструкции основного характера предлагается извлекать дихлорметаном из проб воды после подщелачивания до pH 11 добавкой триэтиламина или раствора аммиака. Стоит отметить, что дихлорметан является одним из наиболее распространенных экстрагентов, используемых для извлечения ТХ, их прекурсоров и продуктов деструкции в экологическом анализе [24, 25]. Известно, что дихлорметан может взаимодействовать с некоторыми аминами [26, 27], причем реакция проходит быстро и при комнатной температуре. В работе [28] представлены два препаративных способа получения хлорида 1-



(хлорметил)-3-хинуклидинола обработкой 3-хинуклидинола дихлорметаном в присутствии карбоната калия в течение 2.5–3.0 ч или выдерживанием в абсолютном дихлорметане 3 сут по схеме 2 (с выходом 78–85%):

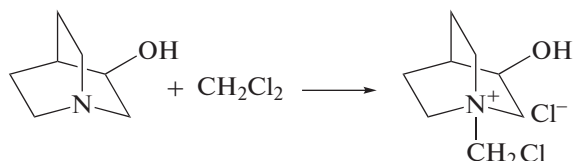


Схема 2. Реакция 3-хинуклидинола с дихлорметаном.

Поскольку большинство аминоспиртов представляет собой полярные соединения с основными свойствами, варьирование кислотности среды может существенно влиять на эффективность экстракции соединений. Так, в работе [29] при определении МДЭА и ЭДЭА в моче показано, что при подкислении пробы соляной кислотой до конечной концентрации 10–150 мМ степень извлечения варьировалась в интервале 10–100%. В работе [30] оказалось достаточным добавление 1 мМ HCl в мочу, при этом достигнуты степени извлечения МДЭА, ЭДЭА и ТЭА 72–100%. Добавление кислоты способствует образованию соответствующих нелетучих гидрохлоридов β-аминоспиртов (аммонийных солей), не препятствуя их дальнейшей дериватизации.

Высокая полярность, термолабильность и низкие значения молекулярных масс затрудняют определение микроколичеств β-аминоспиртов методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и ГХ-МС. Одним из способов эффективного решения проблем в таком случае является химическая модификация – дериватизация целевых соединений с получением легко хроматографируемых веществ.

Основными требованиями к реакциям дериватизации являются простота в экспериментальном исполнении, быстрота протекания и селективность; высокая степень превращения аналитов; устойчивость образующихся дериватов при хранении, их термическая стабильность, хорошие хроматографические свойства и однозначное соответствие исходному соединению при интерпретации [31]. Время удерживания деривата должно отличаться от времени удерживания примесей, содержащихся в матрице пробы, а используемый для реакции реагент должен быть не токсичным, не взрывоопасным и коммерчески доступным. Различные способы дериватизации ТХ и продуктов их деструкции представлены в обзорах [32–34]. Для химической модификации β-аминоспиртов в большинстве случаев применяют реакции силилирования или ацилирования исходных соединений [31]. При этом эффективным и простым в исполнении способом подготовки водных проб является выпаривание досуха, что позволяет сконцентрировать аналиты, а также создать усло-

вия для проведения дериватизации, так как большинство используемых реагентов чувствительны к влаге.

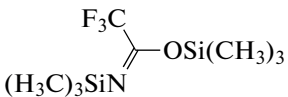
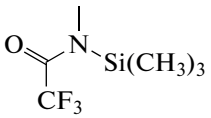
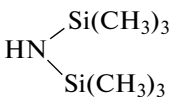
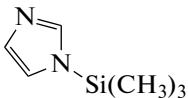
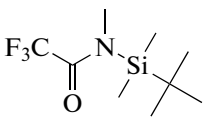
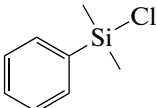
**Дериватизация силилирующими реагентами.** Преимуществами силилирующих реагентов являются их доступность и разнообразие, легкость проведения реакции, термическая стабильность и хорошие хроматографические характеристики образующихся производных. Силилирование β-аминоспиртов основано на замене подвижного атома водорода в гидроксильной группе на алкилсилильную группу. Для ретроспективного определения азотсодержащих ТХ в пробах объектов окружающей среды и биопробах используют следующие силилирующие реагенты: N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамид (БСТФА) [17, 19, 21, 29, 35], N-метил-N-(*m*-пет-бутилдиметилсилил)трифторацетамид (МТБСТФА) [17, 30], диметилфенилхлорсилан [36], гексаметилдисулан [20, 37], N-триметилсилилимидазол [38, 39] (табл. 1).

В рекомендованных процедурах [6] дериватизацию полярных продуктов трансформации ТХ реагентом БСТФА предлагается проводить с предварительным упариванием пробы досуха, растворением остатка в ацетонитриле и заключительным силилированием при 60°C в течение 30 мин. Эти условия реакции считаются универсальными и используются в большинстве случаев с незначительными вариациями. Важным является тот факт, что образующийся в реакции летучий побочный продукт N-триметилсилилтрифторацетамид не создает помех при хромато-масс-спектрометрическом определении целевых соединений вследствие раннего элюирования совместно с растворителем.

В связи с тем, что реакционная среда может в значительной степени влиять на процесс дериватизации, авторы работы [35] оценили эффективность реакции БСТФА с аминоспиртами, извлеченными из пробы мочи, в среде различных растворителей: этилацетата, тетрагидрофурана, дихлорметана, диэтилового эфира, гексана, ацетонитрила и диметилсульфоксида. Лучшие результаты наблюдались в случае полярных растворителей ацетонитрила и диметилсульфоксида [35]. Отмечалась стабильность полученных производных в течение двух суток при хранении при температуре 4°C.

Для определения ВЗ и его биомаркера 3-хинуклидинола в образцах мочи методом ГХ-МС применяли дериватизацию N-метил-N-триметилсилилтрифторацетамидом [11]. Пробы после подщелачивания пропускали через сорбционный патрон, а элюирование целевых соединений проводили концентрированным раствором аммиака с последующим упариванием досуха и дериватизацией. Максимальный выход триметилсилилового эфира 3-хинуклидинола получен при нагревании реакционной смеси до 70°C в течение

**Таблица 1.** Силилирующие реагенты и условия получения производных  $\beta$ -аминоспиртов

| Силилирующий реагент  | Аналит*  | Условия реакции (температура, время, растворитель)  | Литература                               |
|---|--|---|--|
| N,O-Бис(триметилсилил)трифторацетамид (БСТФА)<br>                          | ДИПЭА, МДЭА, ТЭА, ЭДЭА<br>ЭПЭА, ДПЭА, МДЭА, ЭДЭА, ТЭА, ДИПЭА<br>ДИПЭА, ДЭАА, ТЭА, 3-Хин<br>МДЭА, ЭДЭА, ТЭА<br>Частично гидролизованные НН1–3     | Комнатная температура, 15 мин, CHCl <sub>3</sub><br>70°C, 1 ч, CH <sub>3</sub> CN<br>60°C, 1 ч, CH <sub>3</sub> CN<br>60°C, 30 мин, CH <sub>3</sub> CN<br>70°C, 30 мин, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | [17]<br>[19]<br>[21]<br>[29, 35]<br>[40] |
| N-Метил-N-триметилсилилтрифторацетамид<br>                                 | 3-Хин  | 70°C, 15 мин, CH <sub>3</sub> CN  | [11]                                     |
| Гексаметилдисилазан<br>  | ЭДЭА, ТЭАЭ, 3-Хин, ДИПЭА<br>ДЭАА, ДИПЭА, ТЭА, ЭДЭА   | 70°C, 45 мин, CH <sub>3</sub> CN<br>40°C, 45 мин, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub><br>с 0.01% иода   | [20]<br>[37]                             |
| N-Триметилсилилимидазол<br>   | ДИПЭА, МДЭА, ТЭА, ЭДЭА, ТЭА  | 80°C, 30 мин, C <sub>6</sub> H <sub>14</sub><br>70°C, 30 мин, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>3</sub> в присутствии (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> SiCl  | [38]<br>[39]                             |
| N-( <i>трет</i> -Бутилдиметилсилил)-N-метилтрифторацетамид (МТБСТФА)<br> | ДИПЭА, МДЭА, ЭДЭА, ТЭА<br>МДЭА, ЭДЭА, ТЭА<br>Частично гидролизованные НН1–3<br>МПЭА, МИЭА, ЭПЭА, ЭИЭА, ПИЭА, ДПЭА, ДИПЭА, МДЭА, ТЭА, ЭДЭА, 3-Хин | 60°C, 30 мин, CHCl <sub>3</sub><br>60°C, 1 ч, CH <sub>3</sub> CN<br>100°C, 60 мин, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub><br>80°C, 30 мин, CH <sub>3</sub> CN в присутствии N-метилимидазола                   | [17]<br>[30]<br>[40]<br>[41]             |
| Диметилфенилхлорсилан<br>  | ДПЭА, МДЭА, ЭДЭА, ПИПЭА, ДИПЭА   | 24°C, 1 ч, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> в присутствии N-метилимидазола   | [36]                                     |

\* ДПЭА – N,N-дипропилэтаноламин, ДИПЭА – N,N-диизопропилэтаноламин, ДЭАА – N,N-диэтилэтаноламин, МДЭА – N-метилдиэтаноламин, ПИПЭА – N-пропил-N-изопропилэтаноламин, ТЭА – триэтаноламин, ЭДЭА – N-этилдиэтаноламин, ЭПЭА – N-этил-N-пропилэтаноламин, 3-Хин – 3-хинуклидиол.

15 мин. Данные о пробоподготовке, условиях определения силильных производных  $\beta$ -аминоспиртов методом ГХ, значения пределов обнаружения (ПрО) обобщены в табл. 2.

В работе [19] реагент БСТФА использовали для дериватизации шести  $\beta$ -аминоспиртов, извлеченных из образцов воды и плазмы крови с помощью катионообменных сорбционных картриджей. Необходимым шагом подготовки плазмы

крови является депротеинизация, которая осуществлялась добавлением ацетона и выдерживанием образца при  $-20^\circ\text{C}$ . Показано, что извлечение ЭПЭА, N,N-дипропилэтанолamina (ДПЭА), N,N-диизопропилэтанолamina (ДИПЭА), МДЭА, ЭДЭА, ТЭА после осаждения белков увеличивалось с 10–20 до 50–80%. Целевые соединения элюировали с сорбента раствором аммиака в метаноле с последующим анализом методом ГХ-МС. Пределы

обнаружения соединений варьировались в пределах 5–500 нг/мл в зависимости от соединения и режима сканирования сигнала ГХ (табл. 2).

Для сокращения продолжительности и числа операций пробоподготовки с помощью БСТФА провели дериватизацию непосредственно в слое сорбента TenaxTA с последующей термодесорбцией и ГХ-МС-определением [23]. Стоит отметить, что для анализа требуется не более 10 мкл водной пробы при определении МДЭА в концентрациях 0.5–10 мг/л с погрешностью 10–26%. После внесения в сорбционную трубку аликвоты, содержащей МДЭА в смеси с продуктами деградации фосфорорганических ТХ и сернистого иприта, проводили дериватизацию 3 мкл БСТФА с нагревом трубки до 50°C в течение 2 мин. Требуемое время реакции оказалось значительно меньше по сравнению со стандартными условиями реакции с БСТФА (60–70°C, 30 мин). Найдено, что выход деривата МДЭА зависит от pH и достигает наибольших значений в слабощелочной или нейтральной средах (pH 10; pH 6); тогда как в подкисленных образцах (pH 1.5) выход ниже. Аналогичный способ дериватизации в слое сорбента применен для ТЭА, сконцентрированного из воздуха на трубку ORBO 53 [39]. В качестве реагента в работе использовали N-триметилсилилимидазол с добавкой триметилсилилхлорсилана с последующей термодесорбцией производного потоком инертного газа и анализом методом ГХ-МС.

Недостатком триметилсилильных производных является высокая склонность к гидролизу на воздухе и неустойчивость при хранении, вследствие чего их обычно получают непосредственно перед анализом. Гидролитически более стабильными являются *трет*-бутилдиметилсилиловые эфиры, получаемые при взаимодействии веществ с МТБСТФА. Сравнение реагентов БСТФА и МТБСТФА в отношении полярных соединений проведено в работе [46]. Дериватизация с помощью МТБСТФА продуктов гидролиза азотистых ипритов в образцах воды, мочи и крови с последующим определением методом ГХ-МС позволила достичь ПрО для МДЭА и ЭДЭА 2.5 нг/мл, а для ТЭА – 10 нг/мл [30]. Исследуемые пробы подкисляли соляной кислотой (до конечной концентрации 1 мМ) и упаривали досуха. Установлено, что добавка кислоты позволяет значительно снизить потери при упаривании и не мешает дериватизации целевых соединений. Полученные масс-спектры для всех аналитов характеризовались наличием интенсивного пика фрагментного иона состава  $[M - (CH_3)_3CSi(CH_3)_2OCH_2]^+$ . При работе с образцами плазмы крови отмечается невысокая степень извлечения (7–37%) аминспиртов, что, в первую очередь, можно объяснить их нахождением в связанном состоянии, например, с белками, и необходимостью ферментативного расщепления аддуктов. В другом исследовании после осаждения белков и ТФЭ-концентрирова-

ния достигнуты степени извлечения МДЭА и ЭДЭА 60 и 75% соответственно [19].

Применение МТБСТФА имеет ограничения при силилировании соединений с объемными и разветвленными структурами вследствие возможных стерических затруднений как со стороны реагента, так и аминспиртов. В работе [17] авторы отмечали сложности с получением *трет*-бутилдиметилсилильного производного 3-хинуклидинола, имеющего объемный радикал, тогда как при использовании БСТФА таких трудностей не возникало. При определении продуктов гидролиза азотистых ипритов в воде методом ГХ-МС сравнивали процедуры пробоподготовки с использованием ЖФМЭ в полом волокне и ТФМЭ с пятью типами микрофибры в варианте *in situ* и дериватизацией с помощью МТБСТФА и БСТФА [17]. На стадии пробоподготовки волокон Accurel Q3/2 заполняли раствором силилирующего реагента в хлороформе, погружали в водный образец объемом 3 мл и выдерживали в течение 15 мин. Показано, что наиболее полно целевые соединения извлекаются при pH 12 и добавлении в водный образец высаливающего агента (30%-ного раствора хлорида натрия). В режиме сканирования по полному ионному току в ГХ-МС достигнуты низкие значения ПрО ДИПЭА, 3-хинуклидинола, МДЭА, ЭДЭА и ТЭА в водных растворах в диапазоне от 0.04 до 0.36 нг/мл [17]. Достоинствами сочетания ЖФМЭ и ГХ-МС являются простота и удобство исполнения, а также минимальный расход дериватирующего реагента и органических растворителей.

Другой силилирующий реагент – гексаметилдисилазан – позволил провести реакцию с β-аминспиртами в более мягких условиях (40°C) [37]. При этом в качестве побочного продукта образуется аммиак, который не мешает определению дериватов методом ГХ-МС, а на хроматограммах отмечается незначительное количество артефактов, что выгодно отличает гексаметилдисилазан от БСТФА и МТБСТФА [47].

Процедуре дериватизации, как правило, предшествует выделение целевых компонентов из матрицы. Для сокращения времени обработки пробы и повышения эффективности в ряде работ предложено проводить дериватизацию непосредственно в матрице до извлечения аналитов, либо совмещать эти процедуры. Так, предложено проводить дериватизацию азотсодержащих продуктов деградации ТХ, добавляя реагент или раствор реагента, например, непосредственно в почву [37, 44]. Это позволило уже в матрице получить менее полярные дериваты, чем исходные вещества, взаимодействие которых с компонентами почвы слабее по сравнению с этаноламинами, что упрощает дальнейшее извлечение соединений. Например, проведена дериватизация N,N-диэтилэтанолamina (ДЭЭА), ДИПЭА, ЭДЭА, ТЭА с помощью 5%-ного раствора гексаметилдисилазана

**Таблица 2.** Условия пробоподготовки и газохроматографического определения продуктов деструкции азотсодержащих токсичных химикатов

| Аналит                                    | Матрица                         | Пробоподготовка  | Метод анализа                              | Предел обнаружения, нг/мл                                      | Литература |
|---|---------------------------------|--|--|--|------------|
| ДИПЭА, ТЭА, 3-Хин, МДЭА, ЭДЭА             | Вода                            | ЖФМЭ и ТФМЭ, силилирование БСТФА, МТБСТФА  | ГХ-МС-ЭИ                                   | 0.04–0.36  | [17]       |
| ЭПЭА, ДПЭА, ДИПЭА, ТЭА МДЭА, ЭДЭА         | Вода, плазма крови              | ТФЭ на катионообменном (SCX) или полимерном (МСХ) сорбенте, дериватизация БСТФА          | ГХ-МС-ЭИ                                   | SIM: 5–50 (SCX), 10–50 (МСХ); TIC: 50–200 (SCX), 100–500 (МСХ) | [19]       |
| ДИПЭА, ТЭА, ЭДЭА, 3-Хин                   | Вода                            | Магнитная катионообменная ТФЭ, дериватизация ГМДС  | ГХ-МС-ЭИ                                   | SIM: 2 (ЭДЭА); 3 (ДИПЭА); 6 (ТЭА)                              | [20]       |
| ДИПЭА, ТЭА, ДЭЭА, 3-Хин                   | Вода                            | Магнитная катионообменная ТФЭ, дериватизация БСТФА                                       | ГХ-МС-ЭИ                                   | SIM: 23–54   | [21]       |
| ДИПЭА, ТЭА, ЭДЭА                          | Вода                            | Дисперсионная экстракция с дериватизацией ГФБИ   | ГХ-МС-ЭИ<br>ГХ-МС/МС-ХИ (СН <sub>4</sub> ) | TIC: 10 (ДИПЭА); 10 (ЭДЭА); 100 (ТЭА)                          | [22]       |
| МДЭА                                      | Вода                            | Сорбция на TenaxTA, дериватизация БСТФА, термодесорбция                                  | ГХ-МС-ЭИ                                   | Нет данных   | [23]       |
| ЭДЭА, МДЭА                                | Моча крыс                       | Упаривание досуха, дериватизация БСТФА   | ГХ-МС-ЭИ                                   | SIM: 2.5 (ЭДЭА); 1.6 (МДЭА)                                    | [29]       |
| МДЭА, ТЭА, ЭДЭА                           | Вода, моча, плазма крови        | Упаривание досуха, дериватизация МТБСТФА   | ГХ-МС-ЭИ<br>ГХ-МС-ХИ (метан)               | TIC: 2.5 (ЭДЭА); 2.5 (МДЭА); 10 (ТЭА)                          | [30]       |
| ЭДЭА, МДЭА                                | Моча                            | Упаривание досуха, дериватизация БСТФА   | ГХ-МС-ЭИ                                   | SIM: 0.5 (ЭДЭА); 0.4 (МДЭА)                                    | [35]       |
| ДМЭА, ДЭЭА, ДИПЭА, МДЭА ЭДЭА, ДПЭА, ПИПЭА | СН <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | Дериватизация диметилфенилхлорсиланом в присутствии N-метилмидазола                      | ГХ-МС-ЭИ                                   | Нет данных   | [36]       |
| ДЭЭА, ЭДЭА, ДИПЭА, ТЭА                    | Почва                           | Экстракция раствором ГМДС в СН <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> с 0.01% иода                 | ГХ-МС-ЭИ                                   | SIM: 665(ТЭА); 21 (ДЭЭА); 21 (ДИПЭА); 69 (ЭДЭА)                | [37]       |
| ДИПЭА, ТЭА, ДМЭА, ДЭЭА                    | Вода                            | Катионообменная ТФЭ, дериватизация ГФБИ  | ГХ-ИК Фурье                                | 10–15 нг   | [38]       |
| ТЭА                                       | Воздух                          | Сорбция на трубку ORBO 53, дериватизация ТМСИ с 10% (СН <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> SiCl | ГХ-МС-ЭИ                                   | SIM: 1–2 пг  | [39]       |
| Частично гидролизованные HN1–3            | СН <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | Дериватизация БСТФА и МТБСТФА  | ГХ-МС-ЭИ, ГХ-МС/МС-ХИ (метан)              | Нет данных   | [40]       |

Таблица 2. Окончание

| Аналит   | Матрица                         | Пробоподготовка   | Метод анализа  | Предел обнаружения, нг/мл  | Литература |
|--|---------------------------------|---|--|--|------------|
| МПЭА, 3-Хин, МИЭА, ЭПЭА, ЭИЭА, ПИЭА, ДПЭА, ДИЭА, МДЭА, ЭДЭА, ТЭА | Почва                           | Экстракция водой, ТФЭ с катионным обменом, дериватизация МТБСТФА в присутствии N-метилимидазола | ГХ-МС-ЭИ   | ТС: 50 (3-Хин), 20–25 (МПЭА, МИЭА, ЭПЭА, ЭИЭА, ИПЭА, ДПЭА, ДИЭА); 5–20 (МДЭА, ЭДЭА, ТЭА) | [41]       |
| МДЭА, ЭДЭА, ТЭА  | CH <sub>3</sub> CN              | Дериватизация ТФАИ и N-трифторбензимидазолом  | ГХ-МС-ЭИ, ГХ-МС-ХИ   | ТС: 5 нг; ТС: 100 нг (S/N 10:1)  | [42]       |
| ДМЭА, ДЭЭА, ДЭЭА, ДПЭА, ДИПЭА, 3-Хин                             | CH <sub>3</sub> CN              | Дериватизация с <i>n</i> -толилизоцианатом  | ГХ-МС-ЭИ, ГХ-МС-ХИ (CH <sub>4</sub> , <i>i</i> -C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> ) | Нет данных   | [43]       |
| МДЭА, ЭДЭА, ТЭА  | Почва                           | Экстракция раствором ТФАИ   | ГХ-МС-ЭИ   | Диапазон линейности 1–12 мкг/мл  | [44]       |
| Частично гидролизованные HN1–3                                   | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | Дериватизация ТФАИ и ГФБИ   | ГХ-МС-ЭИ, ГХ-МС/МС-ХИ (CH <sub>4</sub> )   | Нет данных   | [45]       |

\*SIM – режим детектирования сканирование по выделенным ионам, ТС – режим детектирования сканирование полного ионного тока, ГМДС – гексаметилдисилазан, ГФБИ – N-гептафторбутирилимидазол, ДПЭА – N,N-дипропилэтанолламин, ДИПЭА – N,N-диизопропилэтанолламин, ДЭЭА – N,N-диэтилэтанолламин, ЖФМЭ – жидкофазная микроэкстракция, МДЭА – N-метилдиэтанолламин, МТБСТФА – N-метил-N-(*meta*-бутилдиметилсилил)трифторацетамид, ПИПЭА – N-пропил-N-изопропилэтанолламин, ТМСИ – N-триметилсилилимидазол, ТФАИ – N-трифторацетилимидазол, ТЭА – триэтанолламин, ЭДЭА – N-этилдиэтанолламин, ЭИ – электронная ионизация, ЭПЭА – N-этил-N-пропилэтанолламин, ХИ – химическая ионизация, 3-Хин – 3-хинуклидиол.

в дихлорметане с добавкой иода в качестве катализатора [37], увеличивающего реакционную способность гексаметилдисилазана за счет поляризации связи Si–N [48]. Степени извлечения аминспиртов из разных типов почв лежали в диапазоне 38–85%. Наибольшее затруднение представлял ТЭА, ПрО которого был более чем на порядок выше ПрО других соединений и составил 665 нг/мл (табл. 2).

Другой дериватирующий реагент – N-трифторацетилимидазол также использовали для ацилирования непосредственно в почве продуктов гидролиза азотистых и сернистых ипритов [44]. Смесь выдерживали пять минут и по завершении реакции полученные производные экстрагировали ацетонитрилом. Сравнение со стандартным протоколом определения аминспиртов в почве показало преимущество подхода дериватизации в матрице с достижением степеней извлечения МДЭА, ЭДЭА и ТЭА 79–88% для концентраций на уровне мг/кг.

Используемые варианты подготовки проб, такие как жидкостная экстракция, ТФЭ, ТФМЭ, имеют ряд недостатков, среди которых отмечается применение большого количества органических растворителей, образование эмульсий, ограничения в кинетике процессов сорбции, невысо-

кие скорости массообмена и низкие емкости волокон. Перспективными представляются развитие и адаптация современных подходов к пробоподготовке, в том числе применительно к аминспиртам, включающих применение наночастиц, в частности, обладающих магнитными свойствами. Новые возможности сочетания магнитно-дисперсионной ТФЭ для одновременного извлечения и дериватизации продуктов деструкции ТХ с использованием наночастиц оксида железа Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> или магнитного графена изучены в работах [20, 21, 49, 50]. При синтезе магнитных наночастиц необходима их стабилизация, которую осуществляют, как правило, путем покрытия их полимерами с последующей функционализацией поверхности. Для этих целей, например, использовали стирол-дивинилбензол и вещества, содержащие сульфогруппы [20].

Показано, что для извлечения ДИПЭА, ЭДЭА, ТЭА, 3-хинуклидинола, присутствующих в водной пробе в концентрациях на уровне 2 мг/мл, достаточно 10 мг модифицированных наночастиц оксида железа Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> [20]. Необходимое количество сорбента оказалось меньше, чем используемое в патронах ТФЭ (500 мг), а процесс отделения от общей массы матрицы с помощью магнита – проще. Отмечено, что для относительно гидро-

фобных аминспиртов ДИПЭА и ЭДЭА время извлечения меньше (15 мин), чем в случае полярных ТЭА и 3-хинуклидинола (30 мин). Дальнейшее силилирование гексаметилдисилазаном (70°C, 45 мин) проводили непосредственно в объеме сорбента [20]. При этом мешающее влияние большого количества катионов металлов, особенно двухзарядных, (например, при анализе сточных вод) в варианте катионообменной ТФЭ с магнитными наночастицами можно частично преодолеть, увеличив количество сорбента [20, 21]. Помимо оксида железа, для экстракции аминспиртов из воды со степенью извлечения 70–81% апробирован нанокомпозит на основе магнитного графена, защищенного полистиро-

лом с сульфогруппами [21]. Отмечена высокая катионообменная емкость сорбента – 2 ммоль/г. Показано, что для работы достаточно его небольшого количества – 3 мг для идентификации 3-хинуклидинола и ТЭА методом ГХ-МС в пробе объемом 1 мл при концентрации веществ на уровне 1 мг/л.

Ускорению реакции силилирования спиртов способствует добавление в реакционную среду азотистых оснований [36, 51]. Последние выступают в роли активирующих агентов, образуя реакционноспособный силилимидазольный интермедиат, который затем реагирует с гидроксильной группой спирта [36] (схема 3):

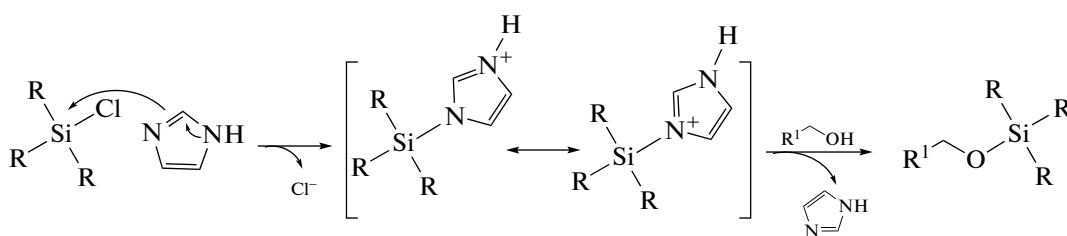


Схема 3. Активация силхлорида имидазолом с последующим силилированием спирта [36].

Кроме того, реакция не требует нагревания. Важным моментом является тот факт, что азотистое основание связывает образующуюся в ходе реакции хлороводородную кислоту, которая негативно влияет на хроматографическую колонку и основные узлы хромато-масс-спектрометра. При сравнении азотистых оснований на примере силилирования *N,N*-диалкиламиноэтанола и *N*-алкилдиэтаноломинов диметилфенилхлорси-

ланом показано, что в присутствии *N*-метилимидазола реакция идет в 3–6 раз эффективнее, чем с пиридином [36]. Авторы объясняли это более выраженными основными свойствами *N*-метилимидазола ( $pK_a = 7.05$ ) по сравнению с пиридином ( $pK_a = 5.25$ ). В результате взаимодействия аминспиртов получали диметилфенилсилильные производные (схема 4):

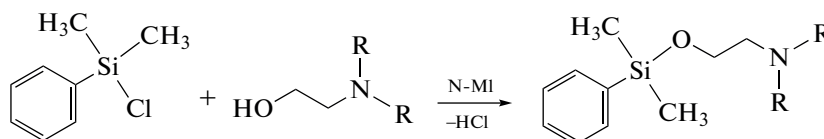


Схема 4. Реакция силилирования *N,N*-диалкилэтаноломинов диметилфенилхлорсиланом.

Индексы удерживания дериватов лежали в диапазоне от 1424 до 2223 (у исходных аминспиртов – 780–1152) [52], что позволило значительно снизить вероятность соэлюирования целевых соединений и легколетучих компонентов проб. В полученных масс-спектрах наиболее интенсивные пики соответствовали ионам  $[M-CH_2OSi(CH_3)_2(C_6H_5)]^+$  и  $[Si(CH_3)_2(C_6H_5)]^+$ . Также были зарегистрированы малоинтенсивные пики ионов  $[M]^+$  и  $[M-CH_3]^+$ .

В работе [41] предложен способ совместного определения одиннадцати  $\beta$ -аминспиртов в

почве методом ГХ-МС. Целевые соединения экстрагировали водой с последующим концентрированием на катионообменном сорбенте. Установлено, что добавление азотистых оснований (пиридина и *N*-метилимидазола) при силилировании реагентом МТБСТФА практически не влияет на выход третбутилдиметилсилильных производных диалкиламиноэтанола и алкилдиэтаноломинов, но значительно увеличивает выход производного 3-хинуклидинола, масс-спектр которого представлен на рис. 3. В присутствии пиридина площадь пика О-третбутилдиметилсил-3-хинуклидинола воз-



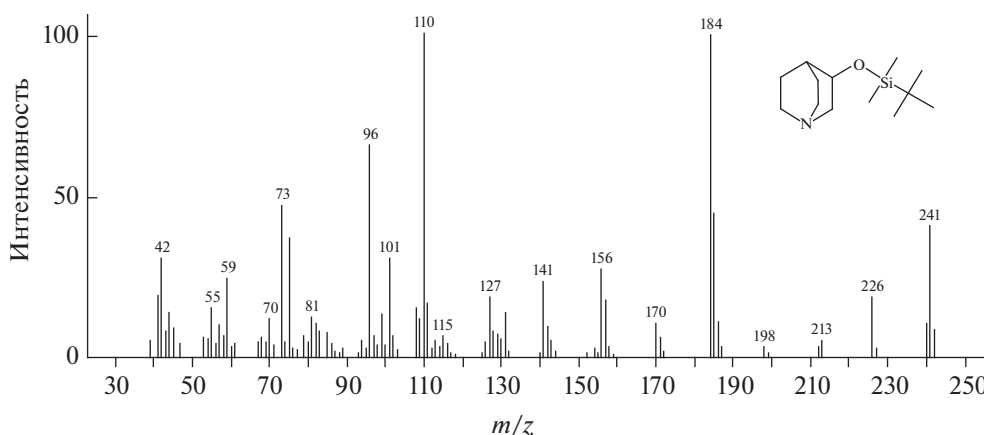


Рис. 3. Масс-спектр электронной ионизации *O*-метил-бутилдиметилсилил-3-хинуклидиола [41].

растала в ~1.5 раза, а при добавлении *N*-метил-мидазола в ~116 раз.

Стоит отметить, что силилирующие реагенты являются групповыми; их действие распространяется на соединения, содержащие как карбоксильные, так и спиртовые группы.

**Дериватизация ацилирующими реагентами.** Ацилирование – эффективный альтернативный способ химической модификации полярных соединений. Причем получение ацильных производных спиртов – один из первых способов дериватизации, применяемой для исследования полярных соединений методом хромато-масс-спектрометрии [53]. Ацилирующие реагенты имеют ряд преимуществ по сравнению с силилирующими. Они более избирательны, не реагируют с кислотами, но взаимодействуют со спиртами, тиолами и аминами. Селективность масс-спектрометрического детектирования ацильных производных обеспечивается присутствием в масс-спектре как молекулярного иона, так и характерных фрагментов молекул дериватов. Реакции, как правило, не требуют нагрева и протекают достаточно быстро. Кроме того, получаемые ацильные производные устойчивы к гидролизу,

стабильны при хранении и позволяют увеличить чувствительность определения аналитов. Используемые ацилирующие реагенты для дериватизации аминспиртов и условия реакций приведены в табл. 3.

В ранних работах в качестве ацилирующих реагентов использовали ангидриды и хлорангидриды кислот. Так, для ацилирования аминспиртов при определении их микроколичеств в воде, воздухе и битумно-солевых массах, образующихся в процессе детоксикации ТХ, применяли уксусный ангидрид с последующим анализом методом ГХ в сочетании с термоионным детектированием [54]. Однако существенным недостатком применения подобных реагентов является образование в ходе реакции кислоты, негативно влияющей на хроматографическую колонку и основные узлы прибора.

Более перспективно использование ациламидных реагентов, таких как *N*-перфторацетилмидазола или *N*-метил-бис(трифторацетамид), не образующих побочных кислых продуктов. Так, в случае перфторированных ацилмидазольных реагентов реакция протекает количественно, в мягких условиях с образованием в качестве побочного продукта 1,3-имидазола (схема 5):

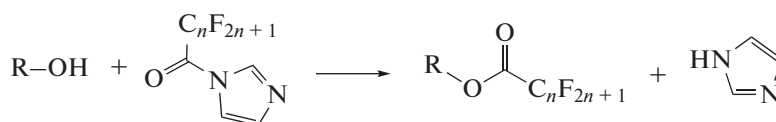
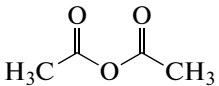
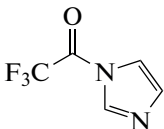
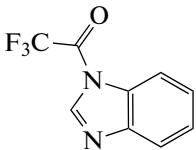
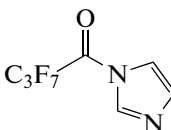
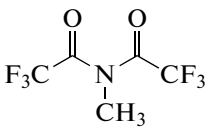
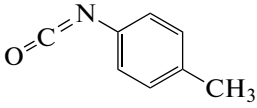
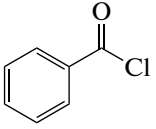


Схема 5. Реакция ацилирования спирта *N*-перфторацетилмидазолом.

В процессе трифторацетилирования более высокую эффективность дериватизации продуктов гидролиза азотистых ипритов показали имидазольные реагенты по сравнению с триазольным соединением [42]. В первом случае дериваты *N*-трифторацетилмидазола и *N*-трифторацетил-

бензимидазола получены в мягких условиях (5 мин, 15°C), тогда как ацилирование *N*-трифторацетилбензотриазолом идет при длительном нагреве (70°C, 120 мин) с выходом продуктов менее 10%. Такое различие реакционной способности связывается авторами работы [42] с меньшей ос-

**Таблица 3.** Ацилирующие реагенты и условия получения производных  $\beta$ -аминоспиртов

| Ацилирующий реагент   | Аналит*  | Условия реакции<br>(температура, время,<br>растворитель)          | Литера-<br>тура |
|---|--|---|-----------------|
| Уксусный ангидрид<br>              | ДМЭА, ДЭЭА   | Комнатная температура,<br>5 мин                                   | [54]            |
| N-Трифторацетилимидазол<br>        | ДИПЭА, МДЭА, ЭДЭА, ТЭА   | 80°C, 30 мин, C <sub>7</sub> H <sub>16</sub>                      | [38]            |
|   | МДЭА, ЭДЭА, ТЭА  | Комнатная температура,<br>5 мин, CH <sub>3</sub> CN               | [42, 44]        |
|   | МПЭА, ДИПЭА, ТЭА, МИЭА,<br>ЭПЭА, ЭИЭА, ПИЭА, ДПЭА,<br>МДЭА, ЭДЭА,<br>3-Хин | 60°C, 15 мин, толуол  | [55]            |
| N-Трифторацетилбензимидазол<br>    | МДЭА, ЭДЭА, ТЭА  | Комнатная температура,<br>5 мин, C <sub>7</sub> H <sub>16</sub>   | [42]            |
| N-Гептафторбутирилимидазол<br>   | ДИПЭА, ЭДЭА, ТЭА   | Комнатная температура,<br>CH <sub>3</sub> CN                      | [22]            |
|   | ДИПЭА, МДЭА, ЭДЭА, ТЭА   | 80°C, 30 мин, C <sub>7</sub> H <sub>16</sub>                      | [38]            |
|   | Частично гидролизованные HN1–3   | Комнатная температура,<br>5 мин, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>  | [45]            |
|   | МПЭА, МИЭА, ЭПЭА, ЭИЭА,<br>ПИЭА, ДПЭА, ДИПЭА, МДЭА,<br>ЭДЭА, ТЭА, 3-Хин    | 60°C, 30 мин, толуол  | [55]            |
| N-Метил-бис(трифторацетамид)<br> | МПЭА, МИЭА, ЭПЭА, ЭИЭА,<br>ПИЭА, ДПЭА, ДИПЭА, МДЭА,<br>ЭДЭА, ТЭА           | 60°C, 30 мин, толуол  | [55]            |
| <i>n</i> -Толилизотиоцианат<br>  | ДМЭА, ДЭЭА, ДПЭА, ДИПЭА,<br>3-Хин  | 60°C, 15 мин, CH <sub>3</sub> CN                                  | [43]            |
| Бензоилхлорид<br>                | ЭДЭА, ТЭА  | <i>In situ</i> в источнике иониза-<br>ции (метод анализа ВЭЖХ)    | [56]            |
|   | ДИПЭА, ТЭА   | 80°C, 3 ч, C <sub>6</sub> H <sub>14</sub><br>(метод анализа ВЭЖХ) | [57]            |

\* ДМЭА – N,N-диметилэтаноламин, ДЭЭА – N,N-диэтилэтаноламин, ДИПЭА – N,N-диизопропилэтаноламин, ДПЭА – N,N-дипропилэтаноламин, 3-Хин – 3-хинуклидиол.



новностью имидазольного кольца ( $pK_a$  7.03) по сравнению с триазольным ( $pK_a$  8.3). Показано, что растворитель (гексан, гептан, дихлорметан, тетрагидрофуран, диэтиловый эфир и ацетонитрил) не оказывает влияние на выход ацильных продуктов. Однако в гептане образующиеся в ходе реакции азотистые основания плохо растворимы. Удаление их из реакционной среды позволит избежать соэлюирования с целевыми соединениями. Кроме того, наличие в анализируемой смеси большого количества аминов загрязняет источник ионизации, создает повышенный фоновый сигнал в масс-спектрометре и снижает чувствительность детектирования.

Ацилирование продуктов гидролиза азотистых и сернистых ипритов, как и силилирование [37], также проводили непосредственно в образцах почвы [44]. После добавления реагента *N*-трифторацетилимидазола смесь выдерживали пять минут и по завершении реакции полученные производные экстрагировали ацетонитрилом и анализировали методом ГХ-МС. В качестве характеристичных выбрали ионы  $[M-113]^+$  и  $[M-127]^+$ , образующиеся в результате элиминирования  $[CF_3COO]^*$  и  $[CF_3COOCH_2]^*$  соответственно. Как недостаток отмечается высокий расход реагента, особенно при высоком содержании влаги и полярных примесей в почве.

Объединение процессов дисперсионной жидкостно-жидкостной экстракции и дериватизации полярных продуктов деструкции ГХ предложено в работе [22]. К пробе воды, содержащей ДИПЭА, ЭДЭА и ТЭА, добавляли диспергатор (ацетонитрил) и карбонат натрия, а сам реагент *N*-гептафторбутирилимидазол в дихлорметане вводили порционно с интенсивным перемешиванием до образования эмульсии. В работе отмечается, что при использовании гептафтормасляного ангидрида реакция идет только с ДИПЭА. Пределы обнаружения в режиме сканирования по полному ионному току для ДИПЭА, ЭДЭА составили 10 нг/мл, для ТЭА – 100 нг/мл.

Идентификация триэтаноламина в объектах окружающей среды может свидетельствовать как о несанкционированном применении азотистого иприта  $HN_3$ , так и о загрязнениях, связанных с промышленной деятельностью при производстве косметических продуктов, лекарств и др. [13, 58]. В то же время наличие частично гидролизованных азотистых ипритов в экологических и техногенных пробах однозначно указывает на запрещенную Конвенцией деятельность. Идентификацию таких продуктов неполного гидролиза в виде дериватов с силилирующими (БСТФА, МТБСТФА) [40] и перфторацелирующими (*N*-трифтораце-

тил- и *N*-гептафторбутирил-имидазол) реагентами выполняли методами ГХ-МС и ГХ-МС/МС с химической и электронной видами ионизации [45]. При ацилировании реализуются более мягкие условия дериватизации (5 мин, комнатная температура) по сравнению с силилированием (70°C, 30 мин) и формируются более “чистые” хроматограммы. Масс-спектры электронной ионизации силильных дериватов содержат единственный интенсивный фрагментный ион состава  $[M-RNCH_2CH_2Cl]^+$ . В то же время масс-спектры перфторацелильных производных более информативны, поскольку в них, наряду с молекулярным ионом, присутствуют интенсивные фрагментные ионы  $[M-C_nF_mCOOCH_2]^+$ ,  $[M-CH_2Cl]^+$  и  $[M-RNCH_2CH_2Cl]^+$ , что позволяет повысить достоверность идентификации целевых соединений в сложных матрицах.

Помимо МС-детектора в ГХ для высокочувствительного определения *N,N*-диалкиламиноэтанола и продуктов гидролиза азотистых ипритов использовали детектирование методом инфракрасной спектроскопии с Фурье-преобразованием [38]. Из трех производных имидазола (*N*-триметилсиллил-, *N*-трифторацетил- и *N*-гептафторбутирилимидазол) самые низкие  $PrO$  наблюдались для гептафторбутирильных производных аминоспиртов (10–15 нг), что связано с увеличением количества связей C–F, обладающих высокой поглощающей способностью в инфракрасной области. Дериватизация позволила увеличить чувствительность в 60–125 раз по сравнению с интактными аналитами.

Несмотря на успешное применение дериватирующего реагента *N*-метил-бис(трифторацетамид) при трифторацелировании молекул аминов, спиртов и тиолов [59], для дериватизации  $\beta$ -аминоспиртов его практически не использовали. В работе [55] оценивали эффективность ацилирования одиннадцати  $\beta$ -аминоспиртов реагентами *N*-метил-бис(трифторацетамидом), *N*-трифторацетилимидазолом, *N*-пентафторпропионилимидазолом и *N*-гептафторбутирилимидазолом. При проведении реакции с *N*-метил-бис(трифторацетамидом) не удалось получить трифторацелильное производное 3-хинуклидинола. При этом максимальные выходы дериватов получены в случае реагентов *N*-пентафторпропионилимидазола и *N*-гептафторбутирилимидазола при нагревании реакционной смеси до 60°C в течение 30 мин. Авторами отмечена эффективность использования толуола в качестве растворителя – он не взаимодействует с целевыми соединениями, позволяет эффективно удалять из реакционной среды образующийся

1,3-имидазол и удобен для хромато-масс-спектрометрических определений.

Активными электрофильными реагентами, взаимодействующими с первичными и вторичными аминами, тиолами и спиртами, также являются изоцианаты. Первоначально *n*-толилизотиоцианат

был адаптирован для химической модификации пинаколилового спирта [60], а впоследствии применен для дериватизации β-аминоспиртов и других полярных продуктов гидролиза ТХ [43]. Реакция дериватизации с *n*-толилизотиоцианатом приведена на схеме 6:

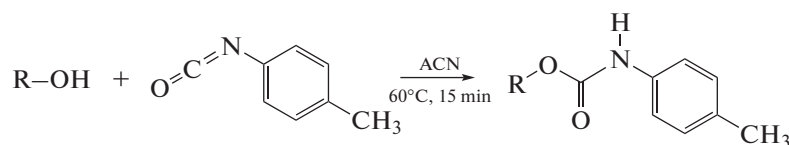


Схема 6. Реакция ацилирования спирта *n*-толилизотиоцианатом.

Среди преимуществ его применения для дериватизации полярных продуктов деструкции ТХ можно выделить быстрое протекание реакции и гидролитическую устойчивость дериватов. При этом отмечаются особенности хроматографирования получаемых соединений: на неполярной колонке элюируются производные диалкиламиноэтанолов, 3-хинуклидинола, диалкиламиноэтанол-N-оксидов. Дериваты N-алкилдиэтанолamines и ТЭА детектируются только в виде монопроизводных, а при протекании реакции *n*-толилизотиоцианата со всеми гидроксигруппами алкиламиноэтантолы не элюируются вовсе. Это объясняется полярностью образующихся ди- и тризамещенных продуктов и их высокими температурами кипения [43]. Большие значения индексов удерживания (2036–2356) производных N,N-диалкиламиноэтанолов и 3-хинуклидинола значительно снижают возможность соэлюирования целевых соединений и примесей в сложной смеси.

Необходимым условием быстрой идентификации целевых соединений является наличие их масс-спектров в специализированных базах данных. В масс-спектрометрических библиотеках наиболее полно представлены сильные производные β-аминоспиртов. Данные по масс-спектрам ацильных производных β-аминоспиртов в основном представлены гептафторбутирильными дериватами. Отметим, что в специализированных электронных библиотеках NIST, OCAD 20 и OPCW Validation Group Working Database [52, 61, 62] не представлены масс-спектры гептафторбутирильных эфиров N,N-дипропилэтанолamina и N-изопропил-N-пропилэтанолamina. Масс-спектральные характеристики трифторацильных производных доступны только для N,N-диизопропилэтанолamina, триэтанолamina и N-алкилированных диэтанолamines. Среди пентафторпропионильных дериватов имеются данные лишь для N-этилдиэтанолamina.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ β-АМИНОСПИРТОВ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Несомненным преимуществом ВЭЖХ по сравнению с ГХ является возможность определения малолетучих и полярных соединений, био(макро)молекул без трудоемких и времязатратных процедур подготовки проб. Подобный подход минимизирует время анализа и позволяет сохранить ТХ и продукты их деструкции без изменений их химических форм, что повышает достоверность идентификации и дает возможность изучать процессы трансформации ТХ. Согласно критериям, принятым ОЗХО и предъявляемым к идентификации веществ, при доказательстве их принадлежности к Спискам Приложения по химикатам Конвенции необходимо использовать, как минимум, два независимых спектральных метода [63]. При этом преимущество отдается методу ГХ-МС. ВЭЖХ применяют несколько реже, в том числе и при определении β-аминоспиртов, что не в последнюю очередь связано с отсутствием масс-спектральных электронных библиотек. Трудность создания последних связана с особенностью ВЭЖХ, проявляющейся в большей вариабельности параметров при оптимизации условий определения и, как следствие, с проблемой их стандартизации. Среди различных видов детектирования аминоспиртов в ВЭЖХ используют МС/МС [13, 64–66], МС с послеклоночной дериватизацией [56], хемилюминесцентное [67], флуоресцентное с послеклоночной дериватизацией [68] и спектрофотометрическое с предклоночной дериватизацией соединений [57].

Одно из первых применений методов ВЭЖХ-МС и ВЭЖХ с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) для идентификации продуктов деструкции токсичных химикатов описано более 20 лет назад [3, 69]. Авторам при скрининге продуктов трансформации различных ТХ в водных образцах, собранных в курдском поселении, удалось идентифицировать 19 веществ. При этом трудности при разделении аминоспиртов каса-

Таблица 4. Условия пробоподготовки и ВЭЖХ-определения продуктов деструкции азотсодержащих токсичных химикатов

| Аналит                        | Матрица   | Пробоподготовка   | Условия хроматографического разделения   | Метод анализа                    | Предел обнаружения, нг/мл   | Литература |
|-------------------------------|---|---|--|----------------------------------|---|------------|
| ТЭА, МДЭА, ЭДЭА, 3-Хин, ДИПЭА | Вода  |   | Nichrom RPV C <sub>8</sub> /C <sub>18</sub><br>ПФ: 0.05% ТФУК в Н <sub>2</sub> O и СН <sub>3</sub> CN, градиентное элюирование | ВЭЖХ-МС-ХИАД,<br>ВЭЖХ-МС/МС-ХИАД | 0.2 нг  | [3]        |
| МДЭА, ЭДЭА, ТЭА               | Дезазирующий раствор. Вода                                | Экстракция СН <sub>3</sub> CN. Отбор водной и органической фракций. Вода – без пробоподготовки          | Primesep 100<br>ПФ: 0.1% ТФУК в Н <sub>2</sub> O (60%) и смесь СН <sub>3</sub> CN/Н <sub>2</sub> O (95 : 5) (40%)              | ВЭЖХ-МС-ИЭР,<br>ВЭЖХ-МС/МС       | Нет данных  | [4]        |
| МДЭА, ЭДЭА, ТЭА               | Моча  | Катионообменная ТФЭ, упаривание досуха, растворение в 10%-ном растворе NH <sub>4</sub> НСO <sub>3</sub> | BDS Huregil® Суало,<br>ПФ: 10 мМ NH <sub>4</sub> НСO <sub>3</sub> (20%) и СН <sub>3</sub> ОН (80%)                             | ВЭЖХ-МС/МС-ХИАД                  | 0.4 (ЭДЭА);<br>0.8 (МДЭА);<br>3.0 (ТЭА)                           | [5]        |
| МЭА, ДЭА, ТЭА                 | Косметические продукты (лосьон, крем, очищающее средство) | Экстракция СН <sub>3</sub> CN   | HILIC<br>ПФ: СН <sub>3</sub> CN (88%) и 5 мМ HCOONH <sub>4</sub> /Н <sub>2</sub> O (12%)                                       | ВЭЖХ-МС/МС-ИЭР                   | 2.00 (МЭА); 0.49 (ДЭА); 0.49 (ТЭА)                                | [13]       |
| МДЭА, ДИПЭА, МЭА, ДЭА, ТЭА    | Растения (корни, стебли, листья, плоды)                   | Гомогенизация или дробление в жидком N <sub>2</sub> , экстракция Н <sub>2</sub> O, центрифугирование    | Omni-Рас PAX-500;<br>ПФ: 0.5% NaOH в смеси Н <sub>2</sub> O/СН <sub>3</sub> CN (200 : 3)                                       | ВЭЖХ-МС-ИЭР,<br>ВЭЖХ-МС/МС-ИЭР   | 0.02 ppm  | [14]       |
| ЭДЭА, ТЭА, ЭДЭА               | Вода  | Послеколоночная дериватизация бензоилхлоридом в источнике ионизации масс-спектрометра                   | Zorbax Eclipse XDB-C18<br>ПФ: 0.001–0.05 М СН <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> /Н <sub>2</sub> O                                | ВЭЖХ-МС-ХИАД                     | Нет данных  | [56]       |
| ДМЭА, ДЭА, ДИПЭА, ТЭА         | Вода (примеси полиэтиленгликоля)                          | Катионообменная ТФЭ, дериватизация бензоилхлоридом  | Zorbax Extend C18<br>ПФ: Н <sub>2</sub> O, СН <sub>3</sub> ОН, градиентное элюирование   | ВЭЖХ-УФ, 237 нм                  | ПрО мкг/мл:<br>18 (ДМЭА);<br>23 (ДЭА);<br>25 (ДИПЭА);<br>32 (ТЭА) | [57]       |

Таблица 4. Окончание

| Аналит                 | Матрица  | Пробоподготовка   | Условия хроматографического разделения  | Метод анализа                | Предел обнаружения, нг/мл   | Литература |
|------------------------|--|---|---|------------------------------|---|------------|
| МДЭА, ЭДЭА             | Моча   | ТФЭ, растворение в 10 мМ растворе $\text{NH}_4\text{HCO}_3$   | Luna CN<br>ПФ: 10 мМ $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ (10%), $\text{CH}_3\text{OH}$ (90%)  | ВЭЖХ-МС/МС-ИЭР               | Нет данных  | [64]       |
| Соли пиперазина НН1–2  | Вода   |   | Aquasil C18,<br>ПФ: 0.1% $\text{HCOOH}/\text{H}_2\text{O}$  | ВЭЖХ-МС<br>ВЭЖХ-МС/МС        | 2 мкг/мл<br>10 нг/мл  | [70]       |
| МДЭА, ЭДЭА             | Моча   | Катионообменная ТФЭ, промывание $\text{CH}_3\text{CN}$ , элюирование смесью $\text{CH}_3\text{CN}$ : $\text{NH}_4\text{OH}$ (98 : 2), выпаривание досуха (TurboVap), 70°C, 10–15 psi, растворение в 3 мМ растворе $\text{NH}_3$ | Xterra RP <sub>18</sub> ;<br>ПФ: 3 мМ раствор $\text{NH}_3$ с рН 10.5 (73%) и $\text{CH}_3\text{OH}$ (27%)  | ВЭЖХ-МС/МС-ИЭР               | 0.4 (ЭДЭА);<br>1.0 (МДЭА)   | [71]       |
| МДЭА, ДЭЭА, ТЭА, АЭЭА  | Сточные воды с высоким фоном после биореактора, биомасса | Фильтрование пробы, разбавление $\text{CH}_3\text{CN}$  | Колонка: Inertsil ODS-3<br>ПФ: для ТЭА, МДЭА: $\text{H}_2\text{O} / \text{CH}_3\text{CN}$ (98 : 2); для АЭЭА: $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}$ (50 : 50) с добавкой 5 мМ $\text{HCOONH}_4$ ; для ДЭЭА: $\text{H}_2\text{O} / \text{CH}_3\text{OH}$ (30 : 70) с добавкой 5 мМ $\text{HCOONH}_4$ | ВЭЖХ-МС/МС-ИЭР               | 3 и 7% солевые пары: 4.3 и 7.4 (ТЭА); 4.2 и 11.2 (МДЭА); 2.7 и 2.2 (ДЭЭА); 74 и 85 (АЭЭА) | [72]       |
| МДЭА, ЭДЭА, ТЭА, ДИПЭА | Вода   | Микрожидкостная электромембранная экстракция в полом полипропиленовом волокне Accurel Q 3/2   | Zorbax Extend C18<br>ПФ: $\text{CH}_3\text{OH}$ и 10 мМ $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}$ ; градиентное элюирование  | Ультра-ВЭЖХ-МС/МС (QTOF)-ИЭР | 20 (МДЭА);<br>10 (ЭДЭА); 10 (ТЭА);<br>2 (ДИПЭА)   | [73]       |

\* ТФУК – трифторуксусная кислота, ПФ – подвижная фаза, АЭЭА – N-(2-аминоэтил)этаноламин, ДЭЭА – N,N-диэтилэтаноламин, ДЭА – диэтиламин, МЭА – моноэтаноламин, 3-Хин – 3-хинуклидиол, ХИАД – химическая ионизация при атмосферном давлении, ИЭР – ионизация электрораспылением, УФ – спектрофотометрическое детектирование (ультрафиолетовый диапазон спектра).

лись ТЭА и МДЭА. В работе достигнуты низкие ПрО: ТЭА – 10 нг/мл, ДИПЭА, МДЭА, ЭДЭА и 3-хинуклидинола – менее 10 нг/мл (табл. 4).

Неуклонная тенденция к миниатюризации проявляется и в современных системах пробоподготовки и анализа продуктов деструкции ТХ. В работе [73] объем водной пробы, в которой определяли аминоспирты (МДЭА, ЭДЭА, ТЭА и ДИПЭА), составил 10 мкл. Для извлечения предложен модифицированный подход микрожидкостной микроэлектромембранной экстракции, реализованный в стеклянном капилляре, с последующим определением веществ методом ультра-ВЭЖХ-МС. Преимуществом электромембранной экстракции по сравнению с экстракцией в полом волокне является значительное сокращение продолжительности процесса (с 20–60 до 3–5 мин) за счет ускорения транспорта частиц под действием напряжения. Ранее показано, что для экстракции веществ с основными свойствами в качестве органического растворителя эффективно использование ароматических нитросоединений [74, 75]. При этом полярные аналиты ( $\lg P < 1$ ) вызывают определенную сложность при

извлечении, поэтому для обеспечения их транспорта требуется добавка ион-парного реагента [76]. В результате для высокополярных ( $\lg P$  от  $-2.5$  до  $1.4$ ) продуктов деструкции азотистых ипритов и VX с основными свойствами авторами выбрана жидкостная мембрана в полом волокне на основе раствора ди(2-этилгексил)фосфата в 2-нитрофенилоктиловом эфире, позволяющая извлекать вещества с эффективностью 15.7–99.7% в зависимости от их полярности и достигать ПрО 10–20 нг/мл [73].

Для повышения чувствительности определения спиртов в ВЭЖХ-УФ, как правило, проводят реакции с реагентами, имеющими в своей структуре хромофорные фрагменты, например, с бензоилхлоридом или 3,5-динитробензоилхлоридом. Однако для осуществления взаимодействия требуется безводная среда и нагрев до 60–100°C. В связи с этим на примере ЭДЭА и ТЭА рассмотрена возможность постколоночной дериватизации в ВЭЖХ-МС с бензоилхлоридом непосредственно в источнике ионизации масс-спектрометра [56] по схеме 7:

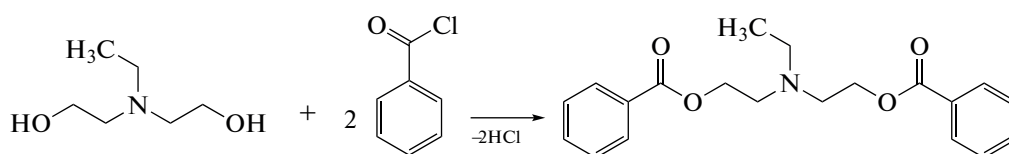


Схема 7. Реакция ацилирования N-этилдиэтанолamina бензоилхлоридом.

При этом попытка получить сигнал деривата с другим реагентом 3,5-динитробензоилхлоридом не дала результатов. Стоит отметить, что реализация постколоночной дериватизации в ВЭЖХ намного проще по сравнению с ГХ-методом и требует только введения реагента в поток подвижной фазы без дополнительных этапов работы и аппаратуры, а получаемые производные с большей молекулярной массой способствуют повышению селективности детектирования целевых соединений. Однако подавление ионизации, загрязнение источника ионов добавляемым реагентом, высокий уровень фонового сигнала требуют поиска других реагентов и условий определения.

Онлайн сочетание методов разделения, очистки и идентификации ВЭЖХ-УФ-ТФЭ-ЯМР с реакцией предколоночного ацилирования бензоилхлоридом N,N-диметилаэтанолamina (ДМЭА), ДЭА, ДИПЭА и ТЭА реализовано в работе [57]. Избыток реагента удаляли из реакционной среды до хроматографического определения промывкой гексанового слоя 10%-ным водным раствором бикарбоната натрия. Однако использование ЯМР-спектрометра для идентификации ограничивает предложенный подход концентрациями веществ на уровне десятков мг/л и выше.

Одной из трудностей при определении МДЭА, ДЭА, N-(2-аминоэтил)этанолamina (АЭЭА) и ТЭА методом ВЭЖХ-МС/МС в промышленных сточных водах с высоким содержанием солей (3 и 7%) является подавление ионизации присутствующими солями [72]. Для снижения эффекта ионной супрессии применяли 10-кратное разбавление анализируемых образцов ацетонитрилом, позволившее проводить определение в диапазоне от 10 до 1000 мкг/л.

Методом ВЭЖХ-МС проведено сравнительное изучение гидролиза HN1, HN2 и HN3 в дегазирующем растворе (эмульсии) и в воде [4]. Показано, что для разделения 12 аминосоединений эффективна не октадецилсилановая неподвижная фаза  $C_{18}$ , а фаза, позволяющая реализовать смешанные гидрофобные и ион-парные взаимодействия. Всего было идентифицировано 21 соединение, причем МДЭА, ЭДЭА, ТЭА первые трое суток не являлись основными продуктами гидролиза азотистых ипритов в водной среде. Показано, что образование этанолaminов из азотистых ипритов идет с различной скоростью через промежуточную стадию формирования устойчивого катиона азиридиния. В процессе экстракции целевых компонентов из дегазирующего раствора

для расслоения эмульсии более всего подходил ацетонитрил, тогда как изопропанол и дихлорметан вызывали выпадение осадка на границе раздела фаз.

Изучение процесса гидролиза и промежуточных продуктов деструкции азотистых ипритов методами ВЭЖХ-МС и ЯМР  $^1\text{H}$  также описано в работе [70]. При образовании димерных продуктов трансформации – солей пиперазина – важным фактором является стабильность промежуточных соединений – ионов азиридиния в растворе. На процесс формирования солей влияет как исходная концентрация  $\text{HN2}$  и  $\text{HN1}$ , так и растворитель. Выявлено, что при концентрации  $\text{HN2}$  менее  $0.001 \text{ M}$  в воде в процессе гидролиза доминирует МДЭА, а выше  $0.01 \text{ M}$  основным продуктом деструкции является соль пиперазина. В то же время при гидролизе  $\text{HN1}$  даже в концентрациях выше  $0.06 \text{ M}$  в растворе преобладает  $\text{N}$ -этил(2-хлорэтил)этаноламин, а соли пиперазина присутствуют в следовых количествах;  $\text{HN3}$  в воде димерных соединений вообще не образует. Данное исследование позволяет по выявленным продуктам гидролиза не только идентифицировать исходные азотистые иприты, но и оценить уровень их экспозиции. Пределы обнаружения солей в ВЭЖХ-МС в режиме полного ионного тока составили  $2 \text{ мкг/мл}$  [70].

Помимо преобладающего использования в анализе аминокислот колонок с неподвижной фазой на основе  $\text{C}_{18}$  (табл. 4), известны работы, где применяли фазы с привитыми цианогруппами [5, 64], а также колонки с реализуемыми гидрофильными взаимодействиями (HILIC) [13, 77]. В последнем случае оптимизированы условия определения моно-, ди- и триэтаноламинов в гидрофильно-связанной хроматографии (HILIC) МС/МС с  $\text{PrO}$  в интервале  $15\text{--}20 \text{ нг/мл}$  [77].

Для эффективного определения аминокислот продемонстрирована возможность использования ионообменной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием [14]. Авторы идентифицировали МДЭА и ТЭА методом ВЭЖХ-МС/МС в образцах болотной растительности после заражения грунтовых вод. Пробы экстрагировали водой и хроматографировали в режиме изократического элюирования на катионообменной колонке. Идентификацию соединений проводили по временам удерживания, а также по соотношению молекулярных ионов  $[\text{M}+\text{H}]^+$  при детектировании в режиме МС и ионов-продуктов  $[\text{M} + \text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$  в варианте МС/МС. Пределы обнаружения составили  $20 \text{ нг/мл}$ . При идентификации аминокислот методом ВЭЖХ-МС/МС отмечаются трудности в извлечении ЭДЭА и МДЭА из биологических матриц, связанные с полярной природой, малыми размерами молекул, а также высокими значениями  $pK_a$  [71].

Метод ВЭЖХ в сочетании с тандемной масс-спектрометрией эффективно используется для определения в биомедицинских пробах маркеров азотистых ипритов [5, 64, 66, 71, 77], которые могут присутствовать в виде метаболитов в моче и образовывать белковые и ДНК-аддукты. Впервые подход к количественному определению несвязанных МДЭА, ЭДЭА в образцах мочи человека продемонстрирован в работе [71]. Данные вещества не образуют аддуктов, что подтверждено результатами оценки их концентрации до и после обработки мочи  $\beta$ -глюкуронидазой: количество МДЭА и ЭДЭА в последнем случае не увеличилось. Это указывает на возможность использования МДЭА и ЭДЭА не только в качестве маркеров ТХ в объектах окружающей среды, но и биомаркеров для установления факта воздействия на человека и животных. При этом пробоподготовка мочи не требовала дериватизации и включала этап ТФЭ, позволяющий удалить мешающие полярные компоненты матрицы и сконцентрировать аналиты. Достигнуты  $\text{PrO}$  ЭДЭА –  $0.4 \text{ нг/мл}$  и МДЭА –  $1.0 \text{ нг/мл}$  (табл. 4). В последующих работах процедура ТФЭ была автоматизирована и методом ВЭЖХ-МС/МС после воздействия азотистыми ипритами определены три компонента (МДЭА, ЭДЭА и ТЭА) с  $\text{PrO}$  в интервале  $0.4\text{--}3.0 \text{ нг/мл}$  [5]. Авторами работы [64] отмечена высокая производительность извлечения ЭДЭА и МДЭА из мочи с использованием установки для автоматической ТФЭ и планшета на 96 ячеек. Для повышения точности определения аминокислот применяли изотопно-меченные внутренние стандарты.

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ $\beta$ -АМИНОСПИРТОВ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Альтернативой хроматографическим методам анализа является капиллярный электрофорез (КЭ), основанный на разделении в кварцевом капилляре под действием приложенного электрического поля. Для определения 3-хинуклидинола и его  $\text{N}$ -алкилпроизводных предложен метод КЭ с МС-детектированием в режиме ионизации электрораспылением [78] и КЭ с косвенным ультрафиолетовым детектированием ( $210 \text{ нм}$ ) [79].

В качестве буферного раствора использовали  $10 \text{ mM}$  раствор ацетата аммония ( $\text{pH}$  4) [78]. Идентификацию аналитов проводили тандемной масс-спектрометрией. Предел обнаружения для 3-хинуклидинола составил  $0.1 \text{ мг/мл}$ , а для его четвертичных аммонийных солей –  $0.05 \text{ мг/мл}$ . При определении 3-хинуклидинола и его  $\text{N}$ -алкилпроизводных в водных растворах с косвенным ультрафиолетовым детектированием ( $210 \text{ нм}$ ) достигнут  $\text{PrO}$   $1 \text{ мкмоль/л}$  с использованием фонового электролита на основе буферного раствора ацетата имидазола с  $\text{pH}$  4 и добавками  $\beta$ -циклодек-

трина или полиэтиленгликоля-2000 [79]. Помимо стационарных систем КЭ, для определения МДЭА, ЭДЭА и ТЭА протестировано портативное устройство с бесконтактным кондуктометрическим детектором с перспективой использования для on-site анализа [80]. Во избежание сорбции веществ поверхность капилляра модифицировали поли(1-винилпирролидон-2-диметиламинометил-метакрилатом). При использовании фонового электролита на основе 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты с добавкой гистидина в пробах воды вещества определили на уровне 5 мкмоль/л.

Несмотря на изучение возможностей метода при определении аминоксодержащих спиртов, он не получил такое распространение, как ГХ и ВЭЖХ. Основными ограничениями метода КЭ являются невысокая концентрационная чувствительность и отсутствие надежного сопряжения с МС-детектором, что не позволяет идентифицировать компоненты сложных смесей в следовых количествах.

#### МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ В ИДЕНТИФИКАЦИИ АМИНОСПИРТОВ

Методом tandemной масс-спектрометрии в режиме ионизации электрораспылением изучена фрагментация N,N-диалкилэтанолламинов [81, 82], N,N-диалкилэтилхлоридов [82, 83], N-оксидов аминоксодержащих спиртов и N-оксидов аминоэтилхлоридов [84, 85]. Азотистые иприты легко подвергаются трансформации с образованием трехчленного гетероциклического интермедиата катиона азиридины, который медленнее реагирует с образованием моногидрокси- и дигидроксипроизводных (рис. 4) [1].

По сути, данные циклические продукты могут быть рассмотрены в качестве маркеров ипритов в объектах окружающей среды в течение первых дней после применения до гидролитического превращения в β-аминосспирты. В процессе трансформации возможно образование димерных продуктов, например, 1,4-диалкилпиперазина (рис. 4) и нециклических конденсированных соединений, чему способствует полярная среда (метанол, диметилсульфоксид) растворителя [1, 70]. Димеризованные продукты могут существовать в виде *цис*- и *транс*-изомеров. Для NH<sub>2</sub> характерен *цис*-изомер, но с удлинением углеводородного радикала молекулы вероятность димеризации уменьшается вследствие стерических затруднений [1]. Неполярные растворители (четырёххлористый углерод, диоксан) стабилизируют мономерные продукты деструкции. Растворы с буферными свойствами (бикарбонаты) приводят к ускорению гидролиза по сравнению с растворами, не обладающими буферными свойствами.

Помимо циклизации, азотсодержащие ТХ могут подвергаться окислению в объектах окружаю-

щей среды с образованием N-оксидов, идентификация которых может служить подтверждением несанкционированного применения азотистых ипритов или прекурсоров VX. При скрининге методом tandemной масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением показано, что N-оксиды аминоксодержащих спиртов и аминоэтилхлоридов легко образуют молекулярный ион [M + H]<sup>+</sup>. Дальнейшая регистрация отщепления характерных нейтральных частиц (ОН + CH<sub>2</sub>ОН) и (ОН + CH<sub>2</sub>Cl) и использование режима мониторинга множественных реакций в МС/МС позволяет избежать ошибок идентификации при совместном присутствии N-оксидов N,N-диалкиламиносспиртов и N,N-диалкиламиноэтантолов [84, 85]. Предложенный подход позволяет определять N-оксиды на уровне 500 мкг/л в присутствии маскирующих агентов без сложных процедур пробоподготовки и использования хроматографических методов. Отмечается, что в ВЭЖХ-МС/МС обеспечиваются разделение изомеров N-оксидов и подтверждение их структуры, в то время как применение ГХ затруднено вследствие термической нестабильности аналитов. Сравнение tandemной масс-спектрометрии и масс-спектрометрии высокого разрешения в определении метаболитов VX, наряду с другими токсичными химикатами нервно-паралитического действия, в моче показало сопоставимость двух методов в отношении правильности, точности и чувствительности определения с небольшим преимуществом и дополнительными возможностями МС высокого разрешения [86].

\*\*\*

Таким образом, β-аминосспирты, как продукты трансформации ТХ, являются важной составляющей частью исследования объектов окружающей и техногенной среды, а также биомедицинских образцов. На сегодня задача поиска высокохарактеристичных маркеров, включая биомаркеры азотистых ипритов, ВZ и V-газов, с целью достоверной идентификации и однозначности вывода о несанкционированном применении ТХ остается актуальной. Важным направлением исследований является поиск эффективных дериватирующих реагентов для селективного взаимодействия с целевыми компонентами и высокочувствительного определения полученных производных в разных матрицах. Несмотря на разнообразие существующих современных подходов к определению β-аминосспиртов, сохраняется тенденция к миниатюризации, ускорению и упрощению процедур пробоподготовки, чему способствует, в том числе, и внедрение нанотехнологий. Снижение границ определяемых концентраций, повышение достоверности результатов на фоне усложнения матриц становится возможным с применением аппаратуры последнего поколения на основе tandemной масс-спектро-



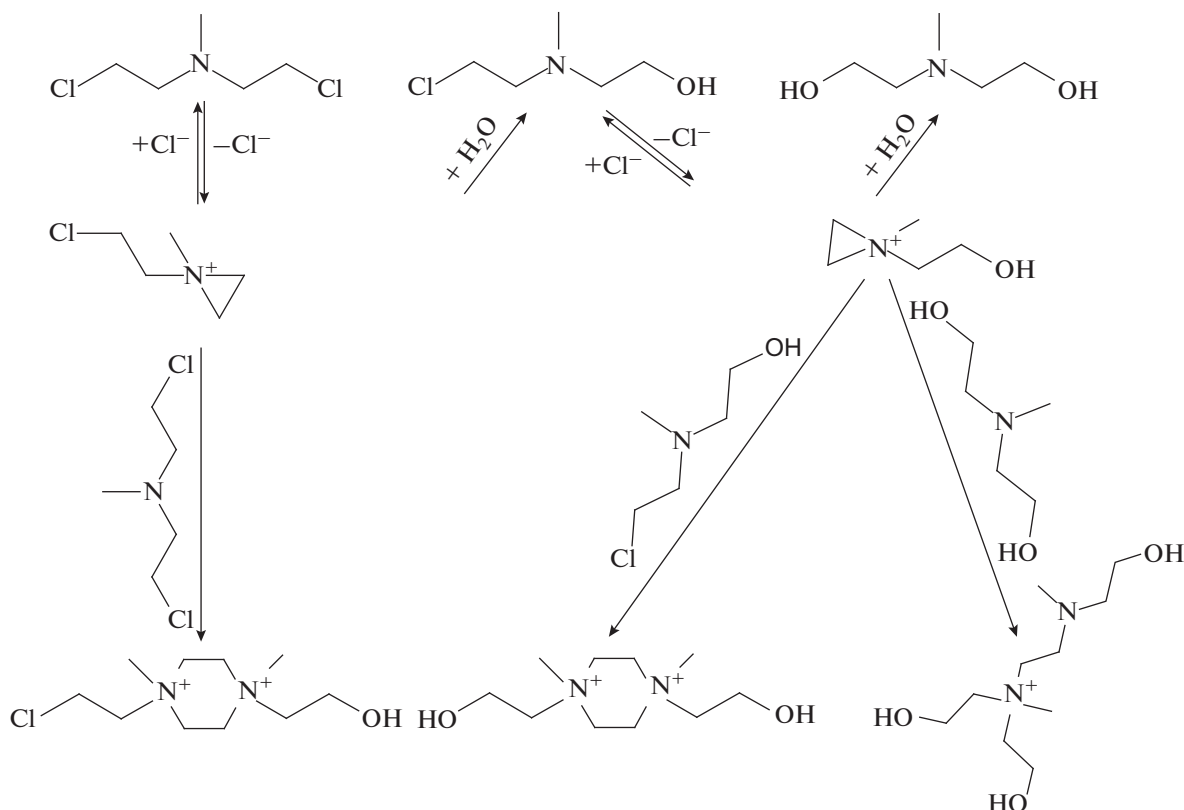


Рис. 4. Схема гидролиза азотистого иприта HN2 [1].

метрии и масс-спектрометрии высокого разрешения. Вклад химиков-аналитиков в дальнейшее развитие и совершенствование подходов к определению продуктов деструкции и прекурсоров азотистых ипритов является важной частью общей задачи обеспечения контроля за нераспространением химического оружия.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wang Q.-Q., Begum R.A., Day V.W., Bowman-James K. Sulfur, oxygen, and nitrogen mustards: Stability and reactivity // *Org. Biomol. Chem.* 2012. V. 10. P. 8786.
2. Munro N.B., Talmage S.S., Griffin G.D., Waters L.C., Watson A.P., King J.F., Hauschild V. The sources, fate, and toxicity of Chemical Warfare Agent degradation products // *Environ. Health Persp.* 1999. V. 107. № 12. P. 933.
3. Black R.M., Read R.W. Application of liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry, and tandem mass spectrometry, to the analysis and identification of degradation products of chemical warfare agents // *J. Chromatogr. A.* 1997. V. 759. P. 79.
4. Chua H.C., Lee H.S., Sng M.T. Screening of nitrogen mustards and their degradation products in water and decontamination solution by liquid chromatography-mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2006. V. 1102. P. 214.
5. Lemire S.W., Barr J.R., Ashley D.L., Olson C.T., Hayes T.L. Quantitation of biomarkers of exposure to nitrogen mustards in urine from rats dosed with nitrogen mustards and from an unexposed human population // *J. Anal. Toxicol.* 2004. V. 28. P. 320.
6. Recommended Operating Procedures for Analysis in the Verification of Chemical Disarmament / Ed. Vaninen P. Helsinki: The Ministry for Foreign Affairs of Finland, 2017. 809 p. <http://www.helsinki.fi/verification/bluebook> (12.12.2019).
7. Epstein J., Callahan J.J., Bauer V.E. The kinetics and mechanisms of hydrolysis of phosphonothiolates in dilute aqueous solution // *Phosphorus.* 1974. V. 4. P. 157.
8. Yang Y.C., Szafraniec L.L., Beaudry W.T., Rohrbaugh D.K. Oxidative detoxification of phosphonothiolates // *J. Am. Chem. Soc.* 1990. V. 112. P. 6621.
9. Misik J. Military incapacitating agent BZ (3-quinuclidinylbenzilate) – Past, present and future // *Military Med. Sci. Lett.* 2013. V.82. № 3. P. 115.
10. Hull L.A., Rosenblatt D.H., Epstein J. 3-Quinuclidinyl benzilate hydrolysis in dilute aqueous solution // *J. Pharm. Sci.* 1979. V. 69. P. 856.
11. Byrd G.D., Paule R.C., Sander L.C., Sniegoski L.T., Bausum H.T. Determination of 3-quinuclidinyl benzilate (QNB) and its major metabolites in urine by isotope dilution gas chromatography/mass spectrometry // *J. Anal. Toxicol.* 1992. V. 16. P. 182.
12. 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.



- C. 32. (Rybal'chenko I.V., Baigil'diev T., Rodin I.A. Chromatography—mass spectrometry analysis for the determination of the markers and biomarkers of chemical warfare agents // *J. Anal. Chem.* 2021. V. 76. № 1. P. 26.)
13. Shin O.K., Lee Y.M. Simultaneous analysis of mono-, di-, and tri-ethanolamine in cosmetic products using liquid chromatography coupled tandem mass spectrometry // *Archiv. Pharm. Res.* 2016. V. 39. № 1. P. 66.
  14. Headley J.V., Peru K.M., Dickson L.C. Ion-exchange electrospray ionization liquid chromatography mass spectrometry and tandem mass spectrometry of alkanolamines in wetland vegetation exposed to Sour-gas contaminated ground-water // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1999. V. 13. P. 730.
  15. Convention on the Prohibition of the Development, Stockpiling and Use of Chemical Weapons and on their Destruction. Technical Secretariat of the Organization for Prohibition of Chemical Weapons, The Hague, 1997. <http://www.opcw.org> (22.05.2020).
  16. Loconto P.R., Pan Y., Kamdem D. Isolation and recovery of 2-aminoethanol, N-methyl-2-aminoethanol, and N,N-dimethyl-2-aminoethanol from a copper amine aqueous matrix and from amine-treated sawdust using liquid-liquid extraction combined with capillary gas chromatography-ion trap mass spectrometry // *J. Chromatogr. Sci.* 1998. V. 36. P. 299.
  17. Lee H.S.N., Sng M.T., Basheer C., Lee H.K. Determination of basic degradation products of chemical warfare agents in water using hollow fibre-protected liquid-phase microextraction with in-situ derivatisation followed by gas chromatography—mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2008. V. 1196–1197. P. 125.
  18. Lee H.S.N., Sng M.T., Basheer C., Lee H.K. Determination of degradation products of chemical warfare agents in water using hollow fiber-protected liquid-phase microextraction with in-situ derivatization followed by gas chromatography-mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2007. V. 1148. P. 8.
  19. Kanaujia P.K., Tak V., Pardasani D., Gupta A.K., Dubey D.K. Application of cation-exchange solid-phase extraction for the analysis of amino alcohols from water and human plasma for verification of Chemical Weapons Convention // *J. Chromatogr. A.* 2008. V. 1185. P. 167.
  20. Singh V., Garg P., Chinthakindi S., Tak V., Dubey D.K. Extraction and derivatization of chemical weapons convention relevant aminoalcohols on magnetic cation-exchange resins // *J. Chromatogr. A.* 2014. V. 1329. P. 10.
  21. Chinthakindi S., Purohit A., Singh V., Tak V., Dubey D.K., Pardasani D. Magnetic graphene – polystyrene sulfonic acid nano composite: A dispersive cation exchange sorbent for the enrichment of aminoalcohols and ethanolamines from environmental aqueous samples // *J. Chromatogr. A.* 2015. V. 1423. P. 54.
  22. Palit M., Mallard G. Dispersive derivatization liquid-liquid extraction of degradation products/precursors of mustards and V-agents from aqueous samples // *J. Chromatogr. A.* 2011. V. 1218. P. 5393.
  23. Terzic O. Screening of degradation products, impurities and precursors of chemical warfare agents in water and wet or dry organic liquid samples by in-sorbent tube silylation followed by thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2010. V. 1217. P. 4987.
  24. Kuitunen M.L. Sample preparation for analysis of chemicals related to the Chemical Weapons Convention in an off-site laboratory / *Chemical Weapons Convention Chemical Analysis. Sample Collection, Preparation and Analytical Methods* / Ed. Mesilaakso M. Chichester: Wiley, 2005. p. 163.
  25. Pragney D., Saradhi U.V.R.V. Sample-preparation techniques for the analysis of chemical-warfare agents and related degradation products // *Trends Anal. Chem.* 2012. V. 37. P. 73.
  26. Rudine A.B., Walter M.G., Wamser C.C. Reaction of dichloromethane with pyridine derivatives under ambient conditions // *J. Org. Chem.* 2010. V. 75. P. 4292.
  27. Nevstad G.O., Songstad J. Solvent properties of dichloromethane. II. The reactivity of dichloromethane toward amines // *Acta Chem. Scandinav. B.* 1984. V. 38. P. 469.
  28. Кондратьев В.А., Юдина И.А., Куткин А.В., Новикова И.В., Новиков Р.И., Смирнова Ж.В. Препаративный метод синтеза галогенидов 1-(галогенметил)-(±)-3-хиноклидинолов // *Журн. общей химии.* 2016. Т. 86. № 9. С. 1573. (Kondrat'ev V.A., Yudina I.A., Kutkin A.V., Novikova I.V., Novikov R.I., Smirnova Zh.V. Preparative method of synthesis of 1-(halomethyl)-(±)-3-quinclidinol halides // *Russ. J. General Chem.* 2016. V. 86. № 9. P. 2135.)
  29. Kenar L., Alp O. Determination of nitrogen mustard hydrolysis products in rat urine samples using GC—MS // *J. Chromatogr. Sci.* 2011. V. 49. P. 361.
  30. Ohsawa I., Seto Y. Determination of nitrogen mustard hydrolysis products, ethanolamines by gas chromatography—mass spectrometry after *tert*-butyldimethyl-silyl derivatization // *J. Chromatogr. A.* 2006. V. 1122. P. 242.
  31. Blau K. Handbook of derivatives for chromatography / Ed. Blau K., Halket J. John Wiley & Sons Ltd, 1993. 369 p.
  32. Black R.M., Muir B. Derivatization reactions in the chromatographic analysis of chemical warfare agents and their degradation products // *J. Chromatogr. A.* 2003. V. 1000. P. 253.
  33. Valdez C.A., Leif R.N., Hok S., Hart B. Analysis of chemical warfare agents by gas chromatography-mass spectrometry: Methods for their direct detection and derivatization approaches for the analysis of their degradation products // *Rev. Anal. Chem.* 2018. V. 37. № 1. <https://doi.org/10.1515/revac-2017-0007>
  34. Witkiewicz Z., Neffe S., Sliwka E., Quagliano J. Analysis of the precursors, simulants and degradation products of chemical warfare agents // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2018. V. 48. № 5. P. 337.
  35. Kenar L., Alp O. Comparison of organic solvents used for the determination of mustard gas hydrolysis products in urine samples using gas chromatography-mass spectrometry // *Anal. Lett.* 2010. V. 43. P. 417.
  36. Valdez C.A., Leif R.N., Hart B.R. Rapid and mild silylation of β-amino alcohols at room temperature mediated by *N*-methylimidazole for enhanced detectability by gas chromatography/electron ionization mass spectrometry // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2014. V. 28. P. 2217.
  37. Chinthakindi S., Purohit A., Singh V., Dubey D.K., Pardasani D. On-matrix derivatization extraction of chemical weapons convention relevant alcohols from soil // *J. Chromatogr. A.* 2013. V. 1311. P. 170.

38. Garg P., Purohit A., Tak V.K., Dubey D.K. Enhanced detectability of fluorinated derivatives of *N,N*-dialkylaminoalcohols and precursors of nitrogen mustards by gas chromatography coupled to Fourier transform infrared spectroscopy analysis for verification of chemical weapons convention // *J. Chromatogr. A*. 2009. V. 1216. P. 7906.
39. Giachetti C. Determination of triethanolamine in air samples by gas chromatography-mass spectrometry // *Chromatographia*. 1998. V. 48. № 5. P. 443.
40. Chandra B., Roy K.S., Shaik M., Waghmare C., Palit M. Mass spectral studies of silyl derivatives of partially hydrolyzed products of nitrogen mustards: Important markers of nitrogen mustard exposure // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2020. V. 34. № 3. <https://doi.org/10.1002/rcm.8586>
41. Новикова И.В., Смирнова Ж.В., Новиков Р.И., Курьгина Л.П. Определение β-аминоспиртов в почве методом газовой хромато-масс-спектрометрии // *Химия и технология органических веществ*. 2020. № 2. С. 57. (Novikova I.V., Smirnova Zh.V., Novikov R.I., Kurygina L.P. Determination of β-aminoalcohols in soil by gas chromatography-mass spectrometry // *Chem. Technol. Org. Substanc.* 2020. № 2. P. 57.)
42. Pardasani D., Palit M., Gupta A.K., Kanaujia P.K., Dubey D.K. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of trifluoroacetyl derivatives of precursors of nitrogen and sulfur mustards for verification of chemical weapons convention // *J. Chromatogr. A*. 2004. V. 1059. P. 157.
43. Karthikraj R., Sridhar L., Murty M.R.V.S., Raju N.P., Vairamani M., Prabhakar S. *p*-Tolyl isocyanate derivatization for analysis of CWC-related polar degradation products by mass spectrometry // *Anal. Bioanal. Chem.* 2014. V. 406. P. 5093.
44. Dubey D.K., Pardasani D., Palit M., Gupta A.K., Jain R. On-matrix derivatization-extraction of precursors of nitrogen- and sulfur-mustards for verification of chemical weapons convention // *J. Chromatogr. A*. 2005. V. 1076. P. 27.
45. Chandra B., Roy K.S., Shaik M., Waghmare C., Palit M. Mass spectral fragmentation of perfluoroacyl derivatives of half nitrogen mustards for their detection by gas chromatography/mass spectrometry // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2020. V. 34. № 12. <https://doi.org/10.1002/rcm.8777>
46. Schummer C., Delhomme O., Appenzeller B.W., Wennig R., Millet M. Comparison of MTBSTFA and BSTFA in derivatization reaction of polar compounds prior to GC/MS analysis // *Talanta*. 2009. V. 77. № 4. P. 1473.
47. Little J.L. Artifacts in trimethylsilyl derivatization reactions and ways to avoid them // *J. Chromatogr. A*. 1999. V. 844. P. 1.
48. Karimi B., Golshani B. Mild and highly efficient method for the silylation of alcohols using hexamethyldisilazane catalyzed by iodine under nearly neutral reaction conditions // *J. Org. Chem.* 2000. V. 65. P. 7228.
49. Chinthakindi S., Purohit A., Singh V., Tak V., Goud D.R., Dubey D.K., Pardasani D. Iron oxide functionalized graphene nano-composite for dispersive solid phase extraction of chemical warfare agents from aqueous samples // *J. Chromatogr. A*. 2015. V. 1394. P. 9.
50. Pardasani D., Kanaujia P.K., Purohit A., Shrivastava A.R., Dubey D.K. Magnetic multi-walled carbon nanotubes assisted dispersive solid phase extraction of nerve agents and their markers from muddy water // *Talanta*. 2011. V. 86. P. 248.
51. Corey E.J., Venkateswarlu A. Protection of hydroxyl groups as *tert*-butyldimethylsilyl derivatives // *J. Am. Chem. Soc.* 1972. V. 94. № 17. P. 6190.
52. NIST Mass Spectral Search Program for the NIST / EPA / NIH Mass Spectral Library. Version 2.3, 2017.
53. Zaikin V.G., Halket J.M. Derivatization in mass spectrometry – 2. Acylation // *Eur. J. Mass Spectrom.* 2003. V. 9. P. 421.
54. Станьков И.Н., Сергеева А.А., Тарасов С.Н. Газо-хроматографическое определение микроколичеств аминоспиртов в воде, воздухе и битумно-солевой массе, образующейся в процессе детоксикации отравляющих веществ // *Журн. аналит. химии*. 2000. Т. 55. № 2. С. 170. (Stan'kov I.N., Sergeeva A.A., Tarasov S.N. Gas-Chromatographic determination of trace amino alcohols in water, air and bitumen-salt masses forming in the detoxication of Chemical Warfare Agents // *J. Anal. Chem.* 2000. V. 55. № 2. P. 170.)
55. Новикова И.В., Смирнова Ж.В., Петрунин В.А., Новиков Р.И., Курьгина Л.П. Перфторацелирование β-аминоспиртов для их анализа методом газовой хромато-масс-спектрометрии // *Химия и технология органических веществ*. 2019. № 3. С. 55. (Novikova I.V., Smirnova Zh.V., Petrunin V.A., Novikov R.I., Kurygina L.P. Perfluoroacylation of β-aminoalcohols for their analysis by gas chromatography-mass spectrometry // *Chem. Technol. Org. Substanc.* 2019. № 3. P. 55.)
56. Creasy W.R. Post-column derivatization liquid chromatography/mass-spectrometry for detection of chemical weapons related compounds // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 1999. V. 10. P. 440.
57. Mazumder A., Kumar A., Purohit A.K., Dubey D.K. Application of high performance liquid chromatography coupled to on-line solid-phase extraction-nuclear magnetic resonance spectroscopy for the analysis of degradation products of V-class nerve agents and nitrogen mustards // *J. Chromatogr. A*. 2010. V. 1217. P. 2887.
58. Cummings J., MacLellan A., Smyth J.F., Farmer P.B. Determination of reactive nitrogen mustard anticancer drugs in plasma by high-performance liquid chromatography using derivatization // *Anal. Chem.* 1991. V. 63. № 15. P. 1514.
59. Donike M. Acylierung mit bis(acylamiden)N-methylbis(trifluoracetamid) und bis(trifluoracetamid), zwei neue reagenzien zur trifluoracetylierung // *J. Chromatogr.* 1973. V. 78. P. 273.
60. Murty M.R.V.S., Raju N.P., Prabhakar S., Vairamani M. Chemical ionization mass spectral analysis of pinacolyl alcohol and development of derivatization method using *p*-tolyl isocyanate // *Anal. Method.* 2010. V. 2. № 10. P. 1599.
61. OPCW Central Analytical Database, e-OCAD V.23\_2021, Technical Secretariat of the Organization for the OPCW, Heulweg, The Netherlands, 2021. Available from the OPCW Laboratory: proficiency@opcw.org (29.04.2021).
62. OPCW Validation Group Working Database, VGWD\_2021, Technical Secretariat of the Organization for the OPCW, Heulweg, The Netherlands, 2021. Available from the OPCW Laboratory: proficiency@opcw.org (29.04.2021).

63. OPCW Quality Management System Documents No.: QDOC/LAB/WI/PT04. 11 March 2019. Available from the OPCW Laboratory: proficiency@opcw.org (22.04.2020).
64. Reddy M.K., Millsa G., Nixon C. High-throughput sample preparation and simultaneous column regeneration liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for determination of nitrogen mustard metabolites in human urine // *J. Chromatogr. B.* 2011. V. 879. P. 2383.
65. Henriks-Eckerman M.L., Souronen K., Jolanki R., Riala R., Tuomi T. Determination of occupational exposure to alkanolamines in metal-working fluids // *Ann. Occup. Hyg.* 2007. V. 51. P. 153.
66. Yeo T.-H., Ho M.-L., Loke W.-K. Development of liquid chromatography-multiple reaction monitoring procedure for concurrent verification of exposure to different forms of mustard agents // *J. Anal. Toxicol.* 2008. V. 32. P. 51.
67. Niina N., Kodamatani H., Uozumi K., Kokufu Y., Saito K., Yamazaki S. Simultaneous detection of monoethanolamine, diethanolamine and triethanolamine by HPLC with a chemiluminescence reaction and on-line derivatization to tertiary amine // *Anal. Sci.* 2005. V. 21. P. 497.
68. Takeuchi A., Kitade T., Jukurogi A., Hendricks W., Kaifuku Y., Shibayama K., Natsumeda S., Ota H., Yamada S., Sumino K., Namera A., Kanno S. Determination method for monoethanolamine and diethanolamine in workplace air by high-performance liquid chromatography // *J. Occup. Health.* 2012. V. 54. P. 340.
69. Read R.W., Black R.M. Rapid screening procedures for the hydrolysis products of chemical warfare agents using positive and negative ion liquid chromatography-mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization // *J. Chromatogr. A.* 1999. V. 862. P. 169.
70. Lee J.Y., Lee Y.H., Byun Y.G. Characterization and study of piperazinium salts, degradation products of nitrogen mustards by nuclear magnetic resonance spectroscopy and liquid chromatography-mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2012. V. 1227. P. 163.
71. Lemire S.W., Ashley D.L., Calafat A.M. Quantitative determination of the hydrolysis products of nitrogen mustards in human urine by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry // *J. Anal. Toxicol.* 2003. V. 27. P. 1.
72. Campo P., Suidan M.T., Chai Y., Davis J. A liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry study of ethanolamines in high salinity industrial wastewaters // *Talanta.* 2010. V. 80. P. 1110.
73. Tak V., Kabra A., Pardasani D., Goud D.R. A glass capillary based microfluidic electromembrane extraction of basic degradation products of nitrogen mustard and Vx from water // *J. Chromatogr. A.* 2015. V. 1426. P. 16.
74. Gjelstad A., Rasmussen K.E., Pedersen-Bjergaard S. Electromembrane extraction of basic drugs from untreated human plasma and whole blood under physiological pH conditions // *Anal. Bioanal. Chem.* 2009. V. 393. P. 921.
75. Eibak L.E.E., Gjelstad A., Rasmussen K.E., Pedersen-Bjergaard S. Kinetic electromembrane extraction under stagnant conditions – Fast isolation of drugs from untreated human plasma // *J. Chromatogr. A.* 2010. V. 1217. P. 5050.
76. Marothu V.K., Gorrepati M., Vusa R. Electromembrane extraction – A novel extraction technique for pharmaceutical, chemical, clinical and environmental analysis // *J. Chromatogr. Sci.* 2013. V. 51. P. 619.
77. Otsuka M., Miyaguchi H., Uchiyama M. Analysis of degradation products of nitrogen mustards via hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2019. V. 1602. P. 199.
78. Bednář P., Lemr K., Barták P., Ševčík J., Hlaváč J., Stýskala J., Wiedermannová I., Stránský Z. Capillary electrophoresis/mass spectrometry: promising tool for the control of some physiologically hazardous compounds. I – Derivatives of 3-quinuclidinol // *J. Mass Spectrom.* 2002. V. 37. P. 1213.
79. Bednář P., Barták P., Lemr K., Ševčík J., Stránský Z. Analysis of 3-quinuclidinol derivatives by capillary electrophoresis // *J. Sep. Sci.* 2003. V. 26. P. 709.
80. Sáiz Mai T.D., Hauser P., García-Ruiz C. Determination of nitrogen mustard degradation products in water samples using portable capillary electrophoresis instrument // *Electrophoresis.* 2013. V. 34. P. 2078.
81. Reddy T.J., Mirza S. P., Saradhi U.V.R.V., Rao V.J., Vairamani M. Mass spectral studies of N,N-dialkylaminoethane-2-ols // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2003. V. 17. P. 746.
82. Papoušková B., Bednář P., Fryšová I., Stýskala J., Hlaváč J., Barták P., Ulrichová J., Jirkovský J., Lemr K. Mass spectrometric study of selected precursors and degradation products of chemical warfare agents // *J. Mass Spectrom.* 2007. V. 42. P. 1550.
83. Reddy T.J., Prabhakar S., Kumar M.R., Saradhi U.V.R.V., Vairamani M. Mass spectral studies of a series of N,N-dialkylaminoethyl-2-chlorides and trimethylsilyl ethers of N,N-dialkylaminoethane-2-ols under electron impact conditions // *J. Mass Spectrom.* 2006. V. 41. P. 59.
84. Sridhar L., Karthikraj R., Murty M.R.V.S., Raju N.P., Vairamani M., Prabhakar S. Mass spectral analysis of N-oxides of Chemical Weapons Convention related aminoethanols under electrospray ionization conditions // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2011. V. 25. P. 533.
85. Sridhar L., Karthikraj R., Lakshmi V.V.S., Raju N.P., Prabhakar S. Rapid screening of N-oxides of chemical warfare agents degradation products by ESI-tandem mass spectrometry // *Anal. Bioanal. Chem.* 2014. V. 406. P. 5235.
86. Hamelin E.I., Bragg W., Shaner R.L., Swaim L.L., Johnson R.C. Comparison of high-resolution and tandem mass spectrometry for the analysis of nerve agent metabolites in urine // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2013. V. 27. P. 1697.

УДК 543.31

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СМАРТФОНА ПРИ ИДЕНТИФИКАЦИИ И КЛАССИФИКАЦИИ ПРИРОДНЫХ МИНЕРАЛЬНЫХ ВОД ПО ЦВЕТОМЕТРИИ ИНДИКАТОРНЫХ БУМАГ

© 2022 г. В. Г. Амелин<sup>а</sup>, \*, З. А. Ч. Шаока<sup>а</sup><sup>а</sup>Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых ул. Горького, 87, Владимир, 600000 Россия

\*e-mail: amelinvg@mail.ru

Поступила в редакцию 06.08.2021 г.

После доработки 02.09.2021 г.

Принята к публикации 06.09.2021 г.

Предложено тест-устройство на основе целлюлозной бумаги для идентификации и классификации природных минеральных вод, содержащее индикаторные зоны для определения общей жесткости, щелочности и pH воды, а также концентраций хлоридов и сульфатов. Цветометрические параметры индикаторных зон тест-устройства после контакта с исследуемой водой определяли с помощью смартфона. В качестве аналитического сигнала ( $A_r$ ) использовали значения цветометрических пара-

метров каждой индикаторной зоны в системе RGB:  $A_r = \sqrt{(R_0 - R_x)^2 + (G_0 - G_x)^2 + (B_0 - B_x)^2}$ . Обработку массива данных проводили методами главных компонент и иерархического кластерного анализа с использованием программного обеспечения XLSTAT. Проведена идентификация и классификация 33 природных минеральных вод (из них восемь газированных).

**Ключевые слова:** природные минеральные воды, идентификация, цифровая цветометрия, смартфон, индикаторная бумага.

**DOI:** 10.31857/S0044450222050024

Цифровая цветометрия все чаще используется для решения различных проблем аналитического контроля [1–3]. Данную группу методов отличает простота аппаратного оформления, возможность применения в качестве цветорегистрирующих устройств цифровой фото-, видео- и оптической офисной техники. Значительный потенциал развития цветометрии обусловлен разработкой современных смартфонов и специализированного программного обеспечения [4, 5]. Достижения последних лет позволяют сделать лабораторные исследования более мобильными и экспрессивными.

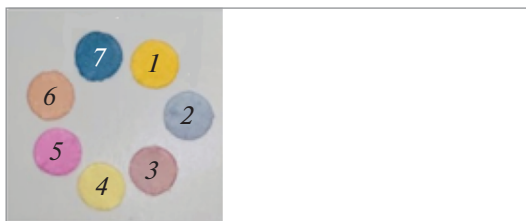
В данной статье мы рассматриваем применение цветометрии и тест-устройств при идентификации различных веществ и предлагаем свой вариант идентификации и классификации природных минеральных вод.

В работах [6, 7] для идентификации и определения 20 токсичных газов ( $\text{NH}_3$ , HF,  $\text{H}_2\text{S}$ , HCN, фосген и др.) предложена матрица из полиэтилентерефталата с включенными в нее 36 индикаторными зонами. В качестве индикаторов-сенсоров использованы металлопорфирины, соли металлов, кислотно-основные индикаторы и вапохромные

соединения. Индикаторные зоны изменяли цвет после контакта матрицы с исследуемыми газами. Матрицу сканировали и определяли значения RGB для каждой индикаторной зоны. Для идентификации массив данных RGB (108) обрабатывали методом иерархического кластерного анализа при различных концентрациях аналитов.

Предложена идентификация нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) методом цифровой цветометрии и способом главных компонент [8]. Анализируемые растворы НПВС помещали в лунки планшета из полипропилена и добавляли реагенты-сенсоры: растворы метилового оранжевого, сульфородамина, 1-гидрокси-пирена, хлорида железа и др. (всего восемь реагентов). Проводили сканирование планшета. В качестве аналитического сигнала использовали разность светлот цветочных каналов для лунки с аналитом и без аналита. Показана успешность идентификации салициловой и ацетилсалициловой кислот, ибупрофена, ацеклофенака, парацетамола.

Предложено использовать смартфон, тест-устройство и хемометрический анализ при идентификации аминов [9]. Тест-устройство пред-



**Рис. 1.** Тест-устройство и схема расположения индикаторных зон в тест-устройстве. 1 – рН, 2 – сульфаты, 3 – щелочность, 4 – рН1, 5 – рН2, 6 – хлориды, 7 – жесткость.

ставляло собой мембрану из ацетата целлюлозы с нанесенными на нее пятью индикаторами (размер зон 11 мм): ализарином, бромфеноловым синим, хлорфеноловым красным, метиловым красным и тимоловым синим. Использование значений RGB в методе главных компонент и иерархического кластерного анализа позволило идентифицировать триэтиламин, изобутиламин и изопентиламин в испорченном мясе.

Проведена идентификация пяти взрывчатых веществ – триацетона трипероксида, гексаметилен трипероксида диамина, 4-амино-2-нитрофенола, нитробензола и пикриновой кислоты – в почве [10]. В качестве тест-устройства использовали целлюлозную бумагу с нанесенными на нее индикаторными зонами с креатинином, иодидом калия и анилином. Использование значений RGB, полученных с помощью смартфона, метода главных компонент и иерархического кластерного анализа позволило идентифицировать и количественно определить взрывчатые вещества.

Девять природных минеральных вод Бразилии классифицированы с использованием цветометрии смартфоном и хемометрики [11]. В качестве индикаторов применяли эриохромовый черный Т и мурексид для определения суммарного содержания кальция и магния. Цветометрические параметры (RGB) измеряли в освещаемом боксе в кюветах с растворами проб воды и реагентов. Для идентификации использовали к-NN (метод ближайшего соседа). Не удалось идентифицировать две воды с близким содержанием кальция и магния. Для более точной идентификации и классификации авторы предлагают использовать большее число колориметрических реагентов.

В данной работе предложено использовать тест-устройство на основе целлюлозной бумаги, состоящее из семи индикаторных зон, для идентификации и классификации природных минеральных вод, регистрацию аналитического сигнала смартфоном и обработку массива данных методами главных компонент и иерархического кластерного анализа.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Аппаратура.** Для изучения оптических и цветометрических характеристик в качестве цветорегистрирующего устройства использовали смартфон iPhone X (Apple, США), оснащенный специализированным программным обеспечением RGBer.

В работе применяли аналитические весы Pioneer PA 214C специального класса точности с пределом взвешивания 0.1 мг (Ohaus Corporation, USA), дозаторы Proline Biohit одноканальные механические переменного объема 2–20 мкл, 100–1000 мкл, 1000–5000 мкл (Biohit, Финляндия).

**Реактивы.** Растворы готовили с использованием деионизованной воды (15–18 МОм·см, ОСТ 11 029.003-80). Применяли тетраборат натрия, эриохромовый черный Т, сульфат серебра, дихромат калия, хлорид бария, конго красный, лимонную кислоту, феноловый красный, нейтральный красный, бромтимоловый синий (Sigma-Aldrich, США).

**Изготовление тест-устройства для анализа.** Использовали целлюлозную бумагу для хроматографии Whatman 17 Chr (Cytiva, США). Для изготовления тест-устройства бумагу замачивали однократно или двукратно (с сушкой перед повторным замачиванием) в растворах реагентов с последующей сушкой (табл. 1). Из полученных индикаторных бумаг изготавливали тест-устройство (рис. 1) и после нанесения пробы воды измеряли цветометрические параметры.

**Проведение анализа.** Воду для анализа в стеклянной и пластиковой таре приобретали в супермаркетах г. Владимира из разных партий в период с апреля по июль 2021 г. Анализ проводили сразу после вскрытия бутылки с водой. На индикаторные зоны помещали по 5 мкл исследуемой воды, через 10–15 мин тест-устройство помещали в бокс (15 × 10 × 8 см) и фотографировали смартфоном со вспышкой (рис. 2). Цветометрические характеристики индикаторных зон определяли программой RGBer на смартфоне. Аналитический сигнал ( $A_r$ ) для каждой индикаторной зоны 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 для дистиллированной и анализируемой воды соответственно. Анализ проводили для трех параллельных проб.

**Хемометрический анализ.** Для идентификации и классификации природных вод применяли метод главных компонент (principal component analysis, PCA) и иерархический кластерный анализ (hierarchical clustering analysis, HCA) с использованием программного обеспечения XLSTAT (v. 2021.3.1).

**Таблица 1.** Составы для пропитки целлюлозной бумаги

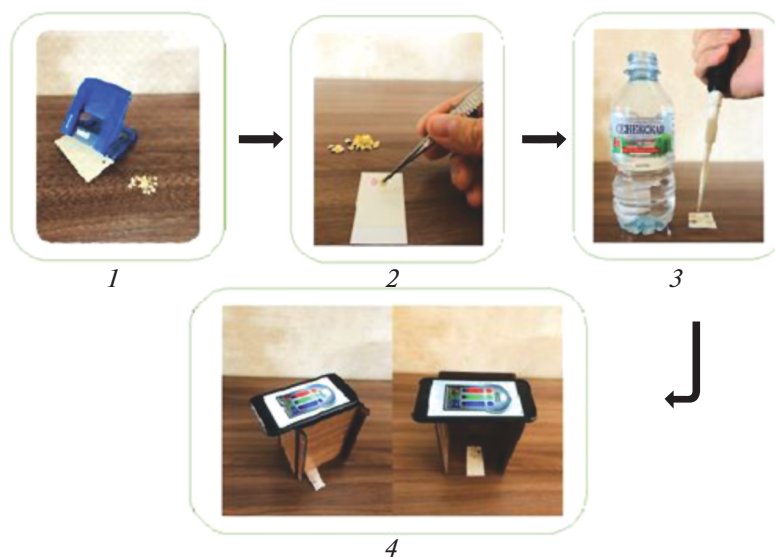
| Индикатор             | Состав пропиточного раствора   |
|-----------------------|--|
| Общая жесткость воды  | 0.08%-ный водный раствор эриохромового черного Т и 0.8%-ный водный раствор тетрабората натрия    |
| Общая щелочность воды | 0.1%-ный водный раствор конго красного и 0.08%-ный водный раствор лимонной кислоты               |
| Хлориды               | 1. 0.05%-ный водный раствор сульфата серебра<br>2. 0.05%-ный водный раствор дихромата калия      |
| Сульфаты              | 1. 0.05%-ный водный раствор хлорида бария<br>2. 0.05%-ный водный раствор эриохромового черного Т |
| pH                    | 0.1%-ный водно-спиртовой раствор фенолового красного   |
| pH1                   | 0.1%-ный водно-спиртовой раствор бромтимолового синего   |
| pH2                   | 0.1%-ный водно-спиртовой раствор нейтрального красного   |

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Природные минеральные воды по геохимическому типу классифицируют в основном на гидрокарбонатные магниевые-кальциевые ( $\text{HCO}_3^- - \text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+}$ ), хлоридно-сульфатные гидрокарбонатные натриевые ( $\text{HCO}_3^- - \text{SO}_4^{2-} - \text{Cl}^- - \text{Na}^+ (\text{Mg}^{2+})$ ) и хлоридно-сульфатные гидрокарбонатные магниевые-кальциевые ( $\text{HCO}_3^- - \text{SO}_4^{2-} - \text{Cl}^- - \text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} (\text{Na}^+)$ ). Источники этих вод находятся в Европейской части и южных регионах России, а также в Кавказском регионе. Для идентификации и классификации таких вод нами выбраны значения обобщенных по-

казателей, таких как общая жесткость, щелочность и pH воды, а также содержание хлоридов и сульфатов. Тест-устройство изготовлено на основе целлюлозной бумаги для идентификации воды по семи показателям (рис. 1, табл. 1). Для определения pH вод использовали три индикатора с различными интервалами перехода окраски: pH – феноловый красный (6.8–8.4), pH1 – бромтимоловый синий (6.0–7.6), pH2 – нейтральный красный (6.8–8.0).

Методом цифровой цветометрии проанализировали 25 природных минеральных вод. Полученные цветометрические данные ( $A_r$ ) обрабатывали методом PCA, получили матрицы счетов и



**Рис. 2.** Схема изготовления тест-устройства и измерения цветометрических характеристик индикаторных зон смартфоном. 1 – изготовление индикаторных зон с помощью дырокола, 2 – приклеивание индикаторов на двусторонний скотч, 3 – нанесение пробы воды на индикаторные зоны, 4 – измерение цветометрических характеристик с помощью смартфона.



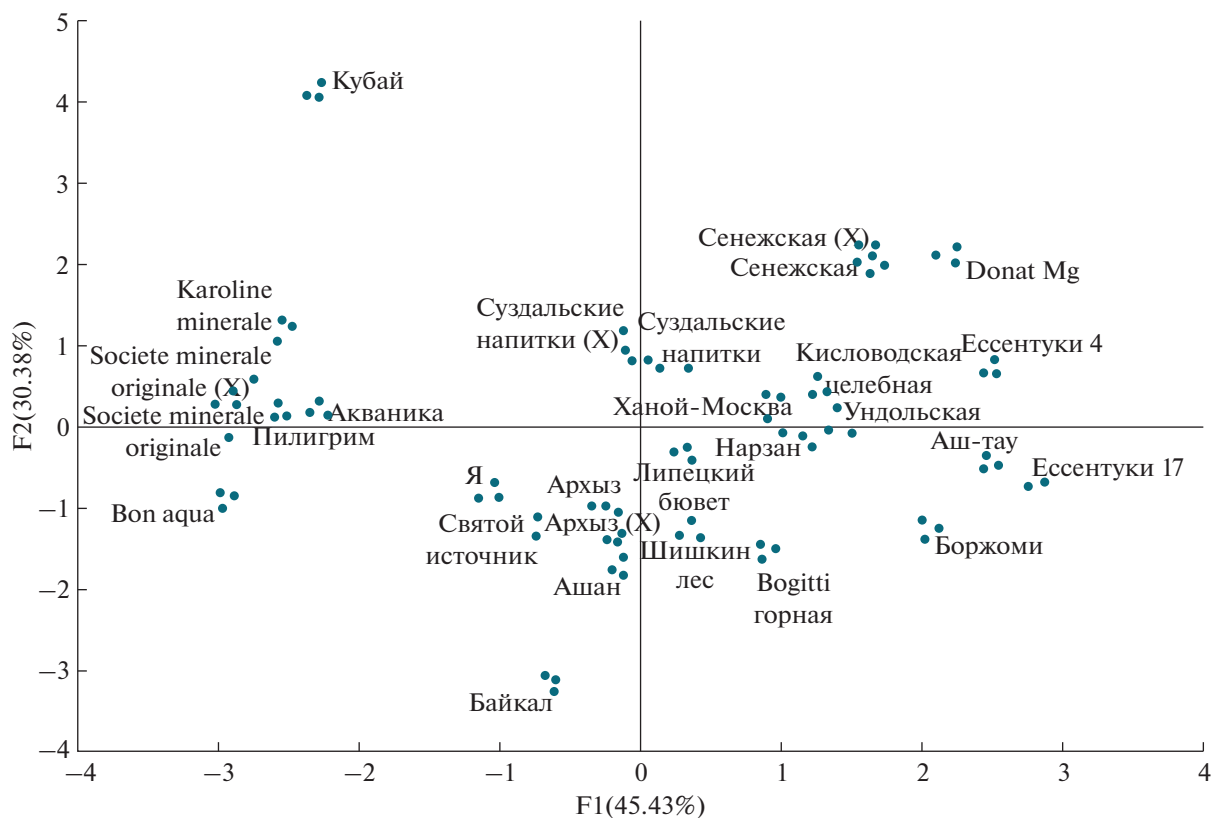


Рис. 3. Проекция канонических функций, отражающие распределение образцов по брендам природных минеральных вод.

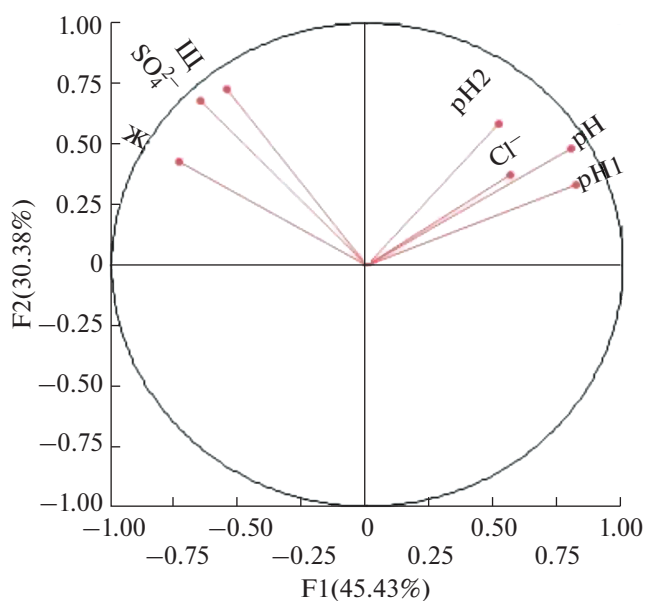


Рис. 4. График нагрузок для семи переменных.

нагрузок. Из пяти главных компонент четкое различие вод (75.81%) установлено для первых двух главных компонент (F1, F2) (рис. 3). График нагрузок для семи переменных показывает, какие переменные ответственны за различие вод (рис. 4). Видно, что общая щелочность (Ш), жесткость (Ж) и содержание сульфатов – важные переменные для вод с низкой минерализацией (1-й и 3-й квадранты), а хлориды и pH – для вод с высокой минерализацией (2-й и 4-й квадранты).

Использование метода иерархического кластерного анализа позволило идентифицировать и классифицировать воды по степени минерализации (рис. 5). На дендрограмме отдельный кластер образуют высокоминерализованные воды Donat Mg, Ессентуки 4, Кисловодская целебная, Ессентуки 17, Аш-тау, Боржоми. Далее следуют кластеры с меньшей минерализацией и в конце – кластер слабоминерализованных вод Кубай, Акваника, Пилигрим и др. Идентифицируемые воды (X) выделены в кластеры с нулевым или небольшим расстоянием (Linkage Distance) от аналогичных вод, использованных для обучающей выборки. Идентификацию проводили также ме-

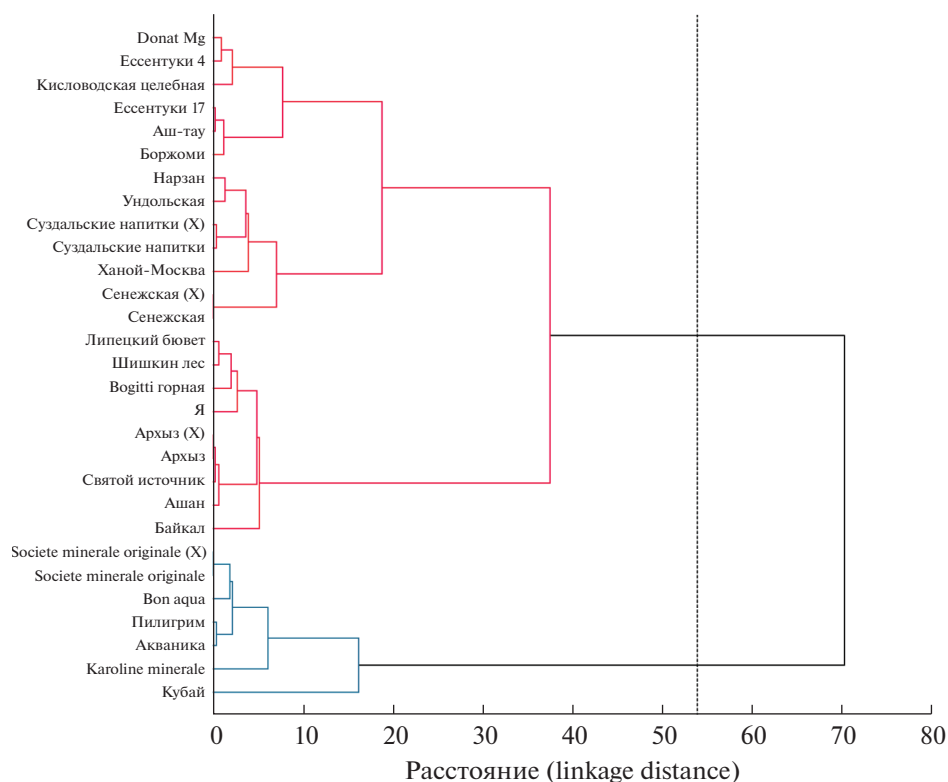


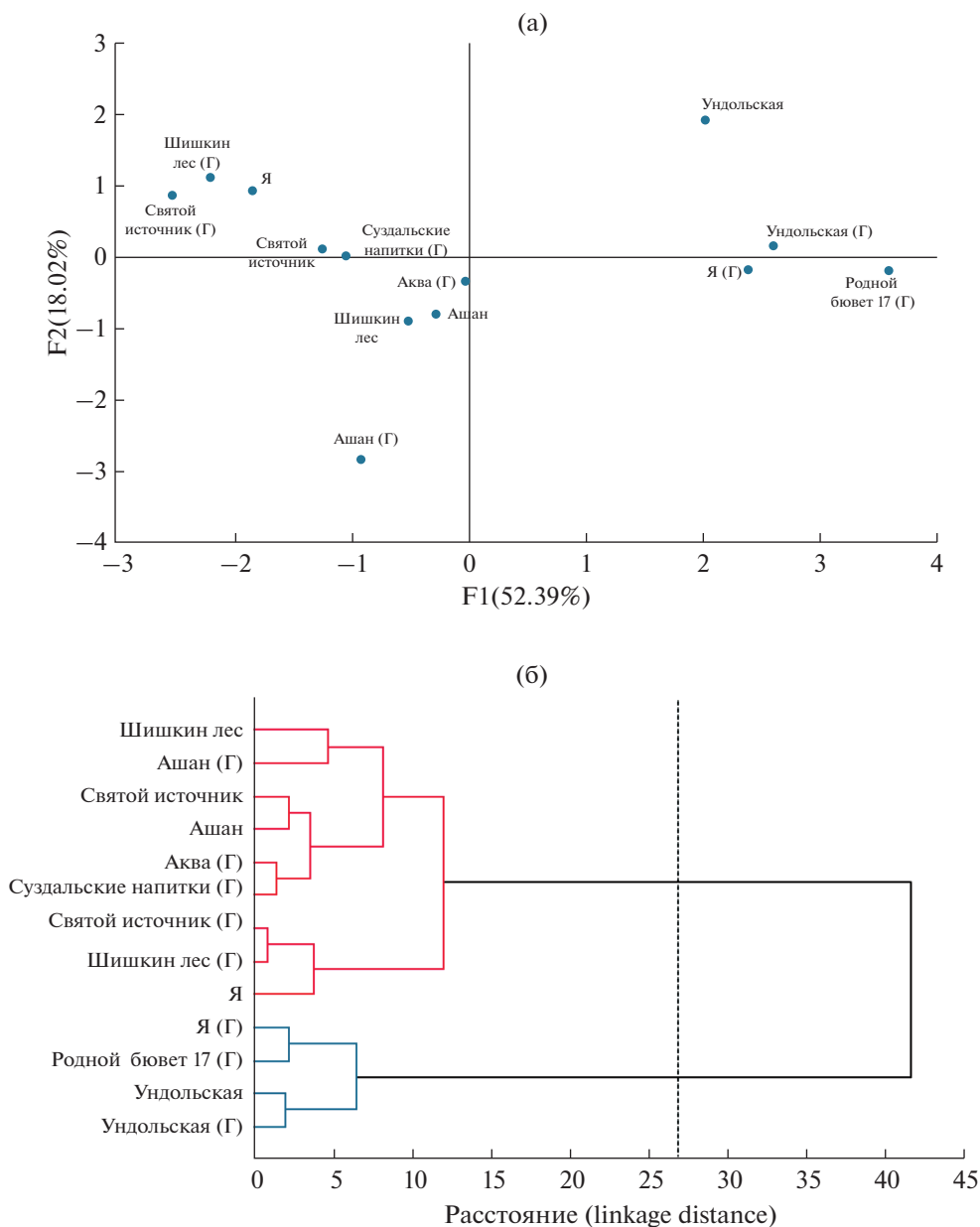
Рис. 5. Дендрограмма 29 природных минеральных вод (метод НСА).

Таблица 2. Идентификация минеральных вод методом k-среднего

| Наименование объекта           | Расстояние от центраида (Липецкий бювет), усл.ед. | Наименование объекта  | Расстояние от центраида (Липецкий бювет), усл.ед. |
|--------------------------------|---|-----------------------|---|
| Ундольская (Г)                 | 103.515   | Пилигрим              | 86.872  |
| Суздальские напитки (Г)        | 53.523  | Karoline minerale     | 100.249   |
| Суздальские напитки (ГХ)       | 53.213  | Кубай                 | 125.443   |
| Родной бювет 17 (Г)            | 84.063  | Аш-тау                | 102.739   |
| Родной бювет 17 (ГХ)           | 83.916  | Ессентуки 4           | 131.295   |
| Шишкин лес (Г)                 | 57.240  | Кисловодская целебная | 88.345  |
| Шишкин лес (ГХ)                | 57.028  | Нарзан                | 35.791  |
| Я (Г)                          | 101.225   | Ессентуки 17          | 104.096   |
| Ашан (Г)                       | 72.571  | Боржоми               | 79.910  |
| Аква (Г)                       | 55.984  | Шишкин лес            | 35.098  |
| Святой источник (Г)            | 66.636  | Липецкий бювет        | 20.588  |
| Сенежская                      | 94.928  | Vogitti горная        | 48.336  |
| Сенежская (Х)                  | 94.796  | Байкал                | 106.773   |
| Суздальские напитки            | 50.269  | Ханой-Москва          | 50.211  |
| Суздальские напитки (Х)        | 50.391  | Ашан                  | 72.285  |
| Von aqua                       | 100.997   | Donat Mg              | 135.896   |
| Societe minerale originale     | 98.333  | Я                     | 42.892  |
| Societe minerale originale (Х) | 97.930  | Святой источник       | 60.142  |
| Архыз                          | 46.103  | Акваника              | 82.422  |
| Архыз (Х)                      | 46.901  | Ундольская            | 74.254  |

Примечание: Г – газированные, ГХ – газированные для идентификации, Х – негазированные для идентификации.





**Рис. 6.** Результаты обработки цветометрических данных для газированных (Г) и негазированных вод методами PCA (а) и HCA (б).

тодом  $k$ -среднего ( $k$ -means) по расстоянию от центроида до воды  $X$ . В табл. 2 приведены расстояния от центроида (Липецкий бювет) до центральной точки кластера определенной воды. Как видно, расхождения в расстояниях вод  $X$  и вод, использованных для обучающей выборки, незначительны, что приводит к 100%-ной идентификации.

Сравнили газированные и негазированные воды одного бренда. Установлено, что газированные и негазированные воды образуют отдельные

кластеры с большим расстоянием между ними (рис. 6, табл. 2). Например, кластер воды  $Я$  находится в первом квадранте, а кластер  $Я(Г)$  – в четвертом. В табл. 2 приведены расстояния от центроида (Липецкий бювет) до центральной точки кластера. Как видно, расхождения в расстояниях газированных вод  $ГХ$  и вод  $Г$ , использованных для обучающей выборки, незначительны. Это можно видеть на дендограмме для 40 видов вод (рис. 7). Газированные воды  $Г$  и воды для идентификации  $ГХ$  образуют один кластер с минималь-

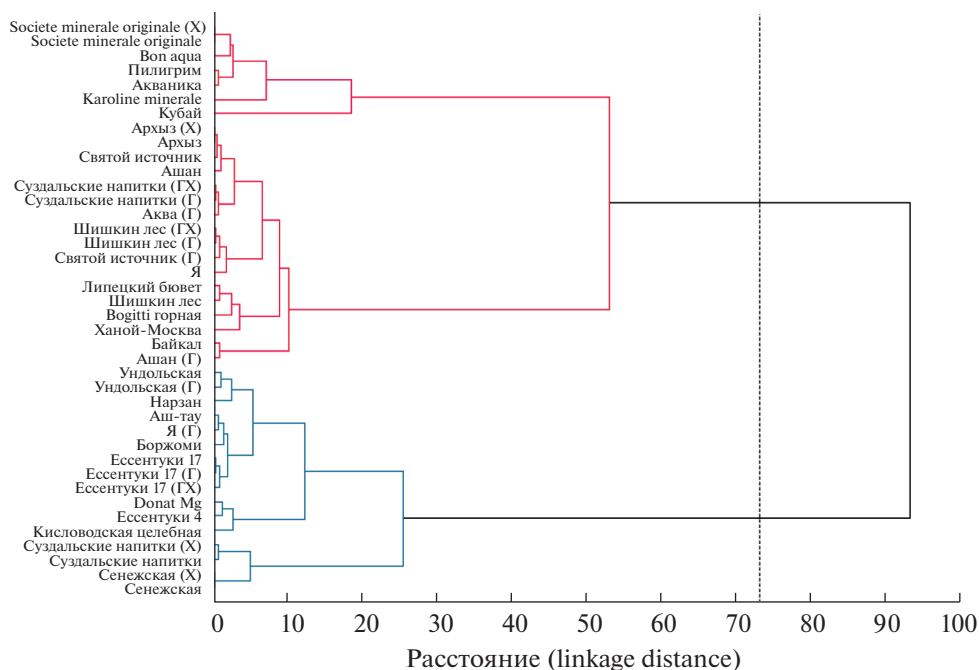


Рис. 7. Дендрограмма для 40 вод. Г – газированные, ГХ – газированные для идентификации, X – негазированные для идентификации.

ным расстоянием (Linkage Distance), что свидетельствует о 100%-ной идентификации. Однако следует учитывать возможность неправильной идентификации газированных вод, связанной со степенью газирования и изменениями при хранении вод.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Моногарова О.В., Осолок К.В., Аяри В.В. Цветометрия в химическом анализе // Журн. аналит. химии. 2018. Т. 73. № 11. С. 857.
2. Аяри В.В., Горбунова М.В., Исаченко А.И., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. Использование бытовых цветорегистрирующих устройств в количественном химическом анализе // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72. № 11. С. 963.
3. Иванов В.М., Кузнецова О.В. Химическая цветометрия: возможности метода, области применения и перспективы // Успехи химии. 2001. Т. 70. № 5. С. 411.
4. Huang X., Xu D., Chen J., Liu J., Li Y., Song J., Ma X., Guo J. Smartphone-based analytical biosensors // Analyst. 2018. V. 143. P. 5339.
5. Rezaeadeh M., Seidi Sh., Lid M., Pedersen-Bjergaard S., Yamini Y. The modern role of smartphones in analytical chemistry // Trends Anal. Chem. 2019. V. 118. P. 548.
6. Feng L., Musto Ch.J., Kemling J.W., Lim S.H., Zhong W., Suslick K.S. Colorimetric sensor array for determination and identification of toxic industrial chemicals // Anal. Chem. 2010. V. 82. № 22. P. 9433.
7. Feng L., Musto Ch.J., Kemling J.W., Lim S.H., Suslick K.S. A colorimetric sensor array for identification of toxic gases below permissible exposure limits // Chem. Commun. 2010. V. 46. P. 2037.
8. Чапленко А.А., Моногарова О.В., Осолок К.В. Идентификация нестероидных противовоспалительных средств методом цифровой цветометрии с применением способа главных компонент // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2020 Т. 9. № 1. С. 55.
9. Bueno L., Meloni G.N., Reddyb S.M., Paixão T.R.L.C. Use of plastic-based analytical device, smartphone and chemometric tools to discriminate amines // RSC Adv. 2015. V. 5 P. 20148.
10. Salles M.O., Meloni G.N., de Araujo W.R., Paixão T.R.L.C. Explosive colorimetric discrimination using a smartphone, paper device and chemometrical approach // Anal. Methods. 2014. V. 6. P. 2047.
11. Silva Neto G.F., Braga A.F., Jez W.B. Classification of mineral waters based on digital images acquired by smartphones // Quim. Nova. 2016. V. 39. № 7. P. 876.

УДК 543.422.8

## ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФТОРА В ГОРНЫХ ПОРОДАХ РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНЫМ МЕТОДОМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРЕССОВАННЫХ ТАБЛЕТОК

© 2022 г. Т. Г. Кузьмина<sup>а</sup>\*, М. А. Тронева<sup>а</sup>, Т. В. Ромашова<sup>а</sup><sup>а</sup>Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук  
ул. Косыгина, 19, Москва, 119991 Россия

\*e-mail: kuzminatg@inbox.ru

Поступила в редакцию 05.07.2021 г.

После доработки 24.11.2021 г.

Принята к публикации 24.11.2021 г.

Изучена возможность определения фтора в горных породах рентгенофлуоресцентным методом с использованием в качестве излучателей прессованных таблеток. Рассмотрены наиболее важные факторы, влияющие на результаты определения фтора: эффект обволакивания; систематические и случайные погрешности, связанные с измерением интенсивности линии фтора и пробоподготовкой; зависимость интенсивности FК $\alpha$ -линии от матричного состава пробы и от соединения, в состав которого входит этот элемент. Полученные результаты оценили с точки зрения допустимых погрешностей. Показано, что для прессованных таблеток невозможно использование единого градуировочного уравнения для горных пород с различными фторсодержащими минералами.

**Ключевые слова:** рентгенофлуоресцентный анализ, определение фтора, эффект обволакивания, матричные эффекты.

DOI: 10.31857/S0044450222060093

Фтор является носителем важной информации о процессах, происходящих в магматических системах. Летучие компоненты, в состав которых входит фтор, находятся в подчиненных количествах по отношению к петрогенным элементам. Однако “их химическая активность вызывает целый ряд существенных изменений в физико-химических свойствах магматического расплава, например, рост кристаллизационной способности минералов, понижение вязкости, снижение температуры кристаллизации, уменьшение поверхностного натяжения и т.д.” [1]. Среднее содержание фтора по Виноградову [2] в земной коре составляет  $660 \times 10^{-4}$  мас. %, при этом оно колеблется от  $100 \times 10^{-4}$  мас. % в ультраосновных породах до  $1400 \times 10^{-4}$  мас. % в агпаитовых нефелиновых сиенитах и может достигать 3.5% и более во фторапатитах. Основными минералами, содержащими фтор, которые встречаются в значительных количествах в горных породах, являются: флюорит CaF<sub>2</sub>, фторапатит Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>F<sub>2</sub> и криолит Na<sub>3</sub>AlF<sub>6</sub>.

Для определения фтора используют преимущественно потенциометрию и ионную хроматографию, но при этом требуется разложение пробы. Ведутся поиски методов, позволяющих определять содержание фтора непосредственно в исходном образце без трудоемкой операции пробоподготовки. Одним из них является метод

рентгенофлуоресцентного анализа (РФА), который давно занял прочное место среди других физико-химических методов определения химического состава вещества. В большинстве геологических институтов применение РФА для определения содержания петрогенных элементов стало традиционным. Вместе с тем выпускаемые в настоящее время спектрометры, благодаря появлению кристалл-анализаторов, эффективно работающих в длинноволновой области спектра, позволяют определять и более легкие элементы, включая фтор. Однако практика использования РФА для определения фтора в горных породах, судя по литературным данным, не получила широкого распространения. Следует упомянуть некоторые работы, в которых при определении фтора использовали способ сплавления пробы с тетраборатом лития. В работе [3] определяли фтор в шлаках сталелитейной промышленности. Диссертация [4] посвящена определению петрогенных элементов и фтора в рудах. В работе [5] получена градуировочная зависимость для определения фтора с использованием таких горных пород, как гранит, цеолит, сиенит и пр.

В работах [6–9] авторы использовали для РФА прессованные таблетки из порошкового материала. Этот способ привлекает своей простотой и низкой стоимостью. Положительные результаты определения фтора, входящего в состав криолита

в алюминиевой матрице, получены в работе Джехта [6]. Фтор в фонолитах с помощью РФА определяли Шефер и Медуня [7]. Образцы готовили в виде прессованных таблеток с добавлением 20% воска. Иорданис и соавт. [8] сообщили об определении фтора в буром угле. Однако Газулла с соавт. [9] на основе РФА полевых шпатов, полевошпатоидов, колеманитов и улекситов сделали вывод, что более точные результаты определения бора и фтора в геологических образцах достигаются методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой или потенциометрии.

В наиболее подробном обзоре работ в рассматриваемой области [10] также отмечено, что РФА редко используется на практике для определения фтора в горных породах и почвах.

Сложившуюся ситуацию можно объяснить рядом факторов, влияющих на погрешность определения фтора: эффектами микроабсорбционной неоднородности, одним из которых является обволакивание; проблемами, связанными с измерением интенсивности  $F_{K\alpha}$ -линии; и матричными эффектами, в том числе особенностями возбуждения рентгеновской флуоресценции фтора.

Смагунова и соавт. отмечали [11], что при истирании пробы может происходить обволакивание зерен, содержащих атомы фтора, другими компонентами смеси, которые истираются быстрее зерен, содержащих фтор, и это приводит к снижению интенсивности флуоресцентного излучения фтора. Влияние этого эффекта можно снизить, отмывая пробу этанолом. В более ранней работе [12] на примере Zn, Pb, Mn установлено, что даже при "мокром" истирании порошка с добавлением этанола не удается полностью освободиться от агрегирования и обволакивания крупных частиц более мелкими.

Проблемы, связанные с измерением интенсивности флуоресцентного излучения фтора, подробно рассмотрены в работе Плесова [10]. Автор на примере многочисленных экспериментов с использованием различных фторсодержащих соединений показал, что интенсивность флуоресценции фтора в почвах, горных породах, минералах и синтетических химикатах может меняться при повторных измерениях. Это относится как к сплавленным образцам, так и к спрессованным таблеткам. Сплавленный апатит, спрессованный грунт и сплавленный флюорит демонстрируют отчетливое увеличение интенсивности фтора; спрессованный апатит,  $K_2TiF_6$ , топаз и грейзен — умеренное увеличение; сплавленный топаз и спрессованный флюорит — стабильную интенсивность флуоресценции; и, наконец, интенсивность  $F_{K\alpha}$ -линии спрессованного криолита резко уменьшается. После анализа целого ряда факторов, которые могут вызывать подобные тренды, в том числе влияние загрязнений поверхности образца, уровня вакуума в спектральной камере, ве-

личины тока рентгеновской трубки и т.д., автор работы [10] пришел к заключению, что изменение интенсивности линии  $F_{K\alpha}$  связано с эффектом радиолиза. Сделан вывод о том, что этот эффект является решающим препятствием в рентгенофлуоресцентной спектроскопии фтора в горных породах и почвах при использовании как сплавленных, так и прессованных излучателей.

Влияние матричных эффектов на интенсивность рентгеновской флуоресценции фтора исследовано в работе [13]. Измерения проводили с использованием таблеток с добавлением воска в качестве связующего вещества. Установлено, что измеренные интенсивности линии  $F_{K\alpha}$  при сопоставимом содержании фтора в системах  $Na_3AlF_6-NaCl$  и  $K_2TaF_7-K_2ZrF_6-NaCl$  отличаются в пять раз. После попыток объяснить это различие авторы пришли к выводу, что чем больше "тяжелых" элементов содержится в пробе, тем труднее оценить степень влияния эффектов ослабления и усиления на интенсивность флуоресцентного излучения фтора.

Нами ранее [14] экспериментально изучены особенности возбуждения флуоресценции линии  $F_{K\alpha}$  в присутствии петрогенных элементов (Na, Mg, Al, Si, Ca, Ti, Mn, Fe). Использовали смеси  $NaF$  и  $CaF_2$  с оксидами петрогенных элементов в соотношении 1 : 1. Установлено, что наибольший вклад в интенсивность линии  $F_{K\alpha}$  за счет дополнительного возбуждения флуоресцентным излучением вносит натрий. Изучено суммарное влияние фото- и Оже-электронов перечисленных выше элементов на интенсивность линии  $F_{K\alpha}$ . Зависимость полученного в этом случае прироста интенсивности флуоресцентного излучения фтора в пересчете на один процент содержания соответствующего петрогенного элемента от его атомного номера показала, что максимум приходится на область  $Z \approx 20-22$ . Так как в работе отсутствовали данные по P, S и K, нельзя исключить вероятности того, что реальный максимум может быть смещен в сторону более легких элементов. Следует отметить, что этот эффект оказывает более значительное влияние на интенсивность флуоресценции фтора по сравнению с эффектом ослабления.

Экспериментально также установлено [14], что интенсивность линий  $F_{K\alpha}$  в смесях  $NaF$  с оксидами петрогенных элементов примерно в 2–2.5 раза превосходит интенсивность линий  $F_{K\alpha}$  для смесей флюорита ( $CaF_2$ ) с этими же оксидами. В смесях  $NaF + CaCO_3$  и  $CaF_2 + Na_2CO_3$  выявлена та же закономерность, хотя элементный состав (мас. %) и коэффициенты ослабления линии  $F_{K\alpha}$  в этих двух случаях практически совпадают. Сделан вывод, что отличительной особенностью фтора является зависимость выхода флуоресценции от вида химического соединения, в состав которого входит этот элемент.

Авторы работ [5, 10, 13] экспериментально также установили, что предпочтительнее строить от-

дельные градуировки для каждого фторсодержащего минерала.

Очевидно, что фтор является весьма проблемным элементом в РФА, особенно при использовании прессованных таблеток. Однако преимущества этого метода анализа настолько привлекательны, что целесообразно продолжать поиск вариантов решения этой задачи. В любом случае новые и неожиданные проблемы, возникающие при определении легких элементов рентгенофлуоресцентным методом, должны стимулировать как попытки их теоретических интерпретаций на основе дальнейшего развития теории взаимодействия рентгеновского излучения с веществом, так и поиск оригинальных экспериментальных подходов к их решению.

Цель данной работы заключалась в экспериментальной оценке влияния на интенсивность линии  $F_{K\alpha}$  при использовании прессованных таблеток эффекта обволакивания, погрешностей,

связанных с измерением интенсивности флуоресцентного излучения фтора и пробоподготовки, а также матричного состава пробы.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали рентгеновский спектрометр Axios Advanced (PANalytical B.V., Нидерланды), оснащенный рентгеновской трубкой с Rh-анодом и толщиной окна 75 мкм, системой регистрации по Соллеру, кристаллами-анализаторами LiF200, LiF220 PE002-C, Ge111-C, PX1, коллиматорами, пропорциональными газоразрядными детекторами в проточном и отпаянном вариантах и сцинтилляционным счетчиком. Условия измерения интенсивности линии  $F_{K\alpha}$  приведены ниже. Фон измеряли с длинноволновой стороны линии.

| Линия         | Режим рентгеновской трубки | Кристалл | Коллиматор | Пик линии, град | Фон, град |
|---------------|----------------------------|----------|------------|-----------------|-----------|
| $F_{K\alpha}$ | 30 мА/100 кВ               | PX1      | 550 мкм    | 43.1050         | +1.9824   |

Применяли стандартные образцы (СО) горных пород с содержанием фтора от 0.03 до 3.5%, а также природный флюорит и химические реактивы NaF, CaF<sub>2</sub>, Na<sub>3</sub>AlF<sub>6</sub>. В качестве вмещающих матриц использовали базальт с содержанием фтора ниже предела обнаружения и химический реактив SiO<sub>2</sub>. Пробы для анализа готовили путем прессования таблеток как с полистиролом (0.3 г пробы и 0.06 г C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>), так и без добавления связующего вещества на подложке из борной кислоты. В последнем случае использовали 0.3 г материала пробы. Диаметр излучателя составлял 20 мм.

Распределение фтора по срезу таблетки получали с помощью сканирующего электронного микроскопа MIRA3 фирмы "TESCAN" (Чехия) с детектором EDS OXFORD instruments X-MAS-80.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Эффекты микроабсорбционной неоднородности.** Для снижения влияния эффекта обволакивания на интенсивность линии фтора необходимо оценить и по возможности устранить причины, его вызывающие. Изучили влияние на интенсивность линии  $F_{K\alpha}$  связующего вещества, часто применяемого при прессовании излучателей для РФА. В качестве такого компонента мы использовали полистирол (C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>). Соотношение по массе пробы к полистиролу составляло 5 : 1. Использовали пробы с высоким содержанием фтора: NaF и CaF<sub>2</sub>. В табл. 1 приведены средние значе-

ния интенсивностей линии  $F_{K\alpha}$ , полученные на таблетках после "сухого" истирания пробы с полистиролом ( $I_{сух}$ ) и промывания пробы после "сухого" истирания ( $I_{пр}$ ). В последнем варианте в растертую пробу добавляли этанол, пробу перемешивали в течение 5 мин стеклянной палочкой без приложения усилий, высушивали, собирали со стенок ступки и прессовали в таблетку. Так как в первых двух образцах отсутствуют другие компоненты, кроме фторсодержащих соединений, можно утверждать, что эффект обволакивания приводит к потере как минимум 10% интенсивности и обусловлен именно полистиролом. Вероятнее всего, это относится и к другим связующим, в частности к воску, который также широко применяют при прессовании таблеток [7, 10]. Аналогичные измерения для пробы горной породы с небольшим содержанием фтора (<1%) показали, что после промывания интенсивность увеличивается на 16%. Хотя в данном случае обволакивание фторсодержащих частиц может вызывать не только полистирол, но и компоненты, входящие в состав самой пробы, можно утверждать, что влияние эффекта обволакивания, обусловленного связующим веществом, значительно.

Смагунова и соавт. [11] использовали двухслойные таблетки на подложке из борной кислоты без применения связующего материала. Нами рассмотрены четыре способа приготовления двухслойных таблеток. В первом способе использовали "сухое" истирание порошковых проб; во

**Таблица 1.** Интенсивности (тыс. имп/с) линии  $F_{K\alpha}$  после “сухого” истирания с добавлением полистирола и промывания этанолом после “сухого” истирания

| Вещество         | $I_{\text{сух.}}$ | $I_{\text{пр.}}$  | $I_{\text{пр.}}/I_{\text{сух}}$ |
|------------------|-------------------|-------------------|---------------------------------|
| NaF              | $4.09 \pm 0.13$   | $4.64 \pm 0.12$   | 1.13                            |
| CaF <sub>2</sub> | $1.35 \pm 0.06$   | $1.46 \pm 0.05$   | 1.08                            |
| Горная порода    | $0.028 \pm 0.002$ | $0.033 \pm 0.002$ | 1.16                            |

**Таблица 2.** Интенсивности (тыс. имп/с) линии  $F_{K\alpha}$  при различных способах пробоподготовки и их отношение к интенсивности линии при “сухом” истирании пробы

| Проба | “Сухое” истирание |                                 | Промывание после “сухого” истирания |                                    | “Мокрое” истирание |                                  | Промывание после “мокрого” истирания |                                     |
|-------|-------------------|---------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|--------------------|----------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
|       | $I_{\text{сух}}$  | $I_{\text{сух}}/I_{\text{сух}}$ | $I_{\text{сух пр}}$                 | $I_{\text{сух пр}}/I_{\text{сух}}$ | $I_{\text{мокр}}$  | $I_{\text{мокр}}/I_{\text{сух}}$ | $I_{\text{мокр пр}}$                 | $I_{\text{мокр пр}}/I_{\text{сух}}$ |
| 1     | $0.035 \pm 0.003$ | 1.0                             | $0.037 \pm 0.003$                   | 1.06                               | $0.035 \pm 0.002$  | 1.0                              | $0.038 \pm 0.003$                    | 1.08                                |
| 2     | $0.057 \pm 0.004$ | 1.0                             | $0.064 \pm 0.003$                   | 1.12                               | $0.046 \pm 0.003$  | 0.81                             | $0.064 \pm 0.004$                    | 1.12                                |

втором – промывание пробы этанолом после ее “сухого” истирания; в третьем способе использовали “мокрое” истирание, в четвертом – промывание пробы после “мокрого” истирания. Оценили вклад, обусловленный эффектом обволакивания, в каждом из способов. Результаты сопоставления интенсивности  $F_{K\alpha}$ -линии, полученные для двух проб горных пород с различным содержанием фтора, представлены в табл. 2. Измерение для каждой пробы проводили три раза и использовали средние значения. Из табл. 2 следует, что изменение значений интенсивности линии фтора составляет от 0 до 12% (в зависимости от выбранного способа подготовки). Наименьшее влияние эффекта обволакивания соответствует второму и четвертому способам, т.е. промыванию этанолом после “сухого” или “мокрого” истирания. Следует отметить, что и в этих случаях нет гарантии полного отсутствия эффекта обволакивания, но снижение его влияния является бесспорным.

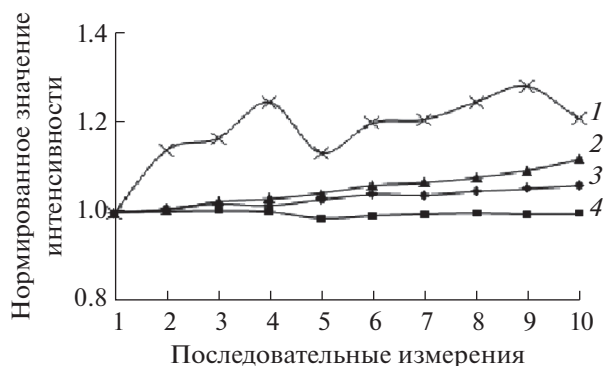
Таким образом, в данной работе экспериментально подтверждено наличие эффекта обволакивания при РФА фтора, который может приводить к уменьшению значения интенсивности линии  $F_{K\alpha}$  на 10% и более. Вклад эффекта можно снизить путем исключения связующего вещества и применения промывания пробы этанолом после ее истирания. Однако излучатели с использованием связующего вещества – более прочные и долговечные по сравнению с двухслойными таблетками, приготовленными на борной кислоте. В связи с этим мы использовали связующее вещество, но с промыванием пробы этанолом после ее “сухого” истирания. В этом случае отмечена наибольшая стабильность значений интенсивности флуоресцентного излучения фтора.

**Погрешности измерения интенсивности и пробоподготовки.** Для оценки влияния эффекта, связанного с изменением интенсивности линии  $F_{K\alpha}$  при многократном повторении измерений на

прессованных таблетках, использовали схему экспериментов, предложенную в работе [10]. Выполнили по 10 измерений на прессованных таблетках из флюорита CaF<sub>2</sub> (чистый природный с полистиролом), криолита Na<sub>3</sub>AlF<sub>6</sub> (с полистиролом и без полистирола на борной кислоте) и СО апатитового концентрата (АК) (с полистиролом). Зависимости нормированных значений интенсивности  $F_{K\alpha}$ -линии (отношения к результату первого измерения) от порядкового номера измерения (измерения проведены в течение одного рабочего дня) приведены на рис. 1. Как и в работе [10], флюорит показывает стабильное значение интенсивности флуоресцентного излучения линии  $F_{K\alpha}$ ; на апатите интенсивность увеличивается. На криолите интенсивность фтора не уменьшается, как в работе [10], а увеличивается со временем как на таблетках, спрессованных с полистиролом, так и без связующего вещества на борной кислоте.

Распределение фтора в поперечном разрезе таблетки после многократных экспозиций в рентгеновском спектрометре исследовали с помощью сканирующего электронного микроскопа. Использовали образец апатитового концентрата, содержащий 3.14% F, после увеличения интенсивности линии  $F_{K\alpha}$  на 20%. Съемку проводили в центре таблетки, на периферии и в средней точке. Все изображения оказались идентичными. Одно из них (в центре таблетки) приведено на рис. 2. Как видно, градиент распределения фтора от центра к поверхностям таблетки отсутствует, распределение фтора равномерно.

Проведенные исследования не позволяют сделать окончательный вывод о природе эффекта, связанного с изменением значений интенсивности при повторяющихся измерениях флуоресценции фтора. Однако его вклад в некоторых случаях составляет более 10%, что может приводить к систематическим погрешностям анализа. Использование первоначальных значений интенсивно-



**Рис. 1.** Интенсивность линии FKa для десяти последовательных измерений апатита (1), криолита с полистиролом (2), криолита на борной кислоте (3) и флюорита (4).

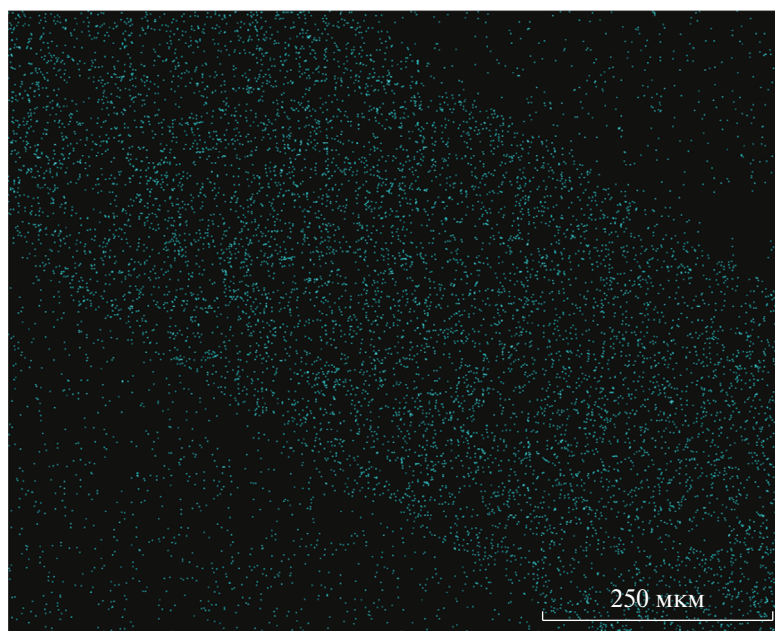
сти, как показали наши эксперименты, позволяет добиться минимальной погрешности измерений. Кроме того, чтобы не подвергать пробу длительному облучению, сократили программу определения фтора (включены только “мешающие” петрогенные элементы), и ее продолжительность составила 6 мин.

В дальнейшем для оценки погрешности измерений использовали три первых значения измеренной интенсивности линии FKa (с учетом фона).

В общем случае случайная погрешность РФА определяется погрешностями пробоподготовки и измерения интенсивности на данном приборе при выбранных условиях анализа. Для расчета погрешностей, обусловленных действием этих факторов, и определения оптимального времени

счета импульсов на линии FKa нами выполнены измерения по схеме однофакторного дисперсионного анализа. Использовали прессованные таблетки с полистиролом (с промыванием). Так как в горных породах содержание фтора может меняться в довольно широких пределах, выбрали четыре диапазона, для каждого из которых подобрали соответствующий СО: 1) <0.05% (Му-3), 2) от 0.05 до 0.1% (ООКО-201), 3) от 0.1 до 1% (АР), 4) >1% (Миса-Mg). Из каждой пробы изготовили по три излучателя, и интенсивность линии FKa на каждом из них измеряли по три раза. Для проб первого и второго диапазонов измерения проводили при четырех временах экспозиции: 10, 20, 30 и 60 с, а для третьего и четвертого — при трех: 20, 30, 60 с. Выполнили расчеты для каждой экспозиции. Рассеяние значений интенсивности линии FKa вокруг ее среднего значения для каждой пробы определяет повторяемость (сходимость) измерений, связанную со статистической природой процесса и стабильностью работы аппаратуры, и характеризуется дисперсией ( $s_{изм}^2$ ) или коэффициентом вариации  $V_{изм}$ . Рассеяние средних значений интенсивностей, рассчитанных по трем измерениям каждой из трех параллельных проб, по отношению к их общему среднему определяет погрешность пробоподготовки и также характеризуется дисперсией ( $s_{пп}^2$ ) и коэффициентом вариации ( $V_{пп}$ ) (табл. 3).

Так как число степеней свободы, для которых рассчитывали дисперсии пробоподготовки для проб с различным содержанием фтора, при разных временах экспозиции одинаково ( $f = 2$ ), то



**Рис. 2.** Изображение распределения фтора в поперечном сечении таблетки, полученное на сканирующем электронном микроскопе.



Таблица 3. Результаты дисперсионного анализа

| Диапазон содержания фтора | Время, с | $s_{\text{изм ср}}^2 \times 10^6$ | $G_{\text{max}}$ | $V_{\text{изм}}, \%$ | $s_{\text{пп}}^2 \times 10^7$ | $V_{\text{пп}}, \%$ | $V_{\Sigma}, \%$ |
|---------------------------|----------|-----------------------------------|------------------|----------------------|-------------------------------|---------------------|------------------|
| <0.05%                    | 10       | 2.93                              | 0.48             | 29.15                | 3.37                          | 19.96               | 35.34            |
|                           | 20       | 1.54                              | 0.81             | 19.64                | 2.31                          | 24.75               | 31.59            |
|                           | 30       | 1.07                              | 0.49             | 17.98                | 0.225                         | 20.81               | 27.52            |
|                           | 60       | 0.37                              | 0.55             | 10.5                 | 3.75                          | 20.42               | 22.96            |
| 0.05–0.1%                 | 10       | 0.846                             | 0.65             | 10.86                | 1.41                          | 14.34               | 17.99            |
|                           | 20       | 0.435                             | 0.58             | 7.5                  | 1.69                          | 12.43               | 14.52            |
|                           | 30       | 0.406                             | 0.6              | 6.89                 | 0.544                         | 12.95               | 14.67            |
|                           | 60       | 0.398                             | 0.57             | 6.0                  | 0.609                         | 12.63               | 13.68            |
| 0.1–1%                    | 20       | 3.30                              | 0.74             | 4.49                 | 6.34                          | 2.98                | 5.39             |
|                           | 30       | 1.85                              | 0.5              | 3.34                 | 2.86                          | 2.94                | 4.45             |
|                           | 60       | 0.537                             | 0.66             | 1.81                 | 7.03                          | 2.96                | 3.48             |
| >1%                       | 20       | 9.05                              | 0.40             | 2.96                 | 65.2                          | 1.18                | 3.19             |
|                           | 30       | 1.96                              | 0.66             | 1.42                 | 38.7                          | 1.22                | 1.87             |
|                           | 60       | 1.51                              | 0.66             | 1.29                 | 61.7                          | 1.25                | 1.79             |

для оценки однородности этих дисперсий можно воспользоваться критерием Кохрена, который основан на законе распределения отношения максимальной выборочной дисперсии  $G_{\text{max}}$  к сумме сравниваемых дисперсий:

$$G_{\text{max}} = s_{\text{max}}^2 / (s_1^2 + s_2^2 + s_3^2 + s_4^2 + \dots + s_m^2),$$

где  $m$  – число сравниваемых дисперсий ( $m = 14$ ).

Расчетное значение  $G_{\text{max}}$  с учетом всех дисперсий выявило их однородность, так как  $G_{\text{max}} = 0.32 < G_{\text{max}}(0.05, 2, 14) = 0.34$ . В этом случае для расчета коэффициента вариации, характеризующего погрешность пробоподготовки в каждом конкретном случае, можно использовать общее среднее значение дисперсий для данных измерений  $s_{\text{ср}}^2 = 1.563 \times 10^{-6}$ . Очевидно, что эта погрешность, выраженная в относительных единицах (коэффициент вариации), значительна для проб первого и второго диапазонов. Это объясняется низкой скоростью счета интенсивности при содержании фтора менее 0.1%, которая составляет единицы и десятки импульсов в секунду.

Однородность дисперсий, характеризующих погрешность измерения интенсивности, оценивали для всех СО в отдельности для каждой из экспозиций. По критерию Кохрена сравнивали дисперсии, полученные для каждой из трех параллельных проб. Полученные расчетные значения  $G_{\text{max}}$  представлены в табл. 4. Так как все  $G_{\text{max}} < G_{\text{max}}(0.05, 2, 3) = 0.87$ , то сравниваемые дисперсии однородны, т.е. можно использовать среднее значение дисперсии для всех интервала содержания и всех экспозиций. В табл. 4 представлены средние значения дисперсий и коэффициентов вариации, характеризующие погрешность измерения интенсивности при различных

временах измерений для всех СО. На рис. 3 показана зависимость коэффициента вариации ( $V_{\text{изм}}$ ) от времени экспозиции для проб с различным содержанием фтора. Очевидно, что для проб с содержанием фтора более 0.1% можно ограничиться экспозицией 40с, так как погрешность измерения интенсивности принимает постоянное значение. Для более низких содержаний: <0.1% и в особенности <0.05% время измерения должно составлять не менее 60 с. Эту экспозицию выбрали для программы определения фтора в образцах горных пород.

Общая случайная погрешность анализа определяется как сумма дисперсий:

$$s_{\text{сумм}}^2 = s_{\text{изм}}^2 + s_{\text{пп}}^2.$$

или в относительных единицах:

$$V_{\text{сумм}}^2 = V_{\text{изм}}^2 + V_{\text{пп}}^2.$$

В табл. 4 приведены значения суммарных и допустимых ( $V_{\text{доп}}$ ), регламентируемых для анализов третьей категории классификации [15], коэффициентов вариации. Видно, что при содержании фтора >0.1% случайные погрешности анализа, обусловленные пробоподготовкой и статистической природой интенсивности рентгеновского излучения, не превосходят допустимые. Следует еще раз заметить, что высокие погрешности измерений и пробоподготовки для низких содержаний фтора обусловлены низкими значениями скорости счета и связаны со статистическим характером излучения. Чтобы снизить эти погрешности, можно увеличить диаметр излучателя. Но это, в свою очередь, потребует более значительного количества материала как стандартных образцов, так и проб.



**Таблица 4.** Случайные погрешности анализа и их суммы для фтора при экспозиции 60 с

| Содержание фтора, % | СО       | $V_{изм}, \%$ | $V_{пп}, \%$ | $V_{\Sigma}, \%$ | $V_{доп}, \%$ |
|---------------------|----------|---------------|--------------|------------------|---------------|
| <0.05               | Му-3     | 10.5          | 20.42        | 22.96            | 20            |
| 0.05–0.1            | ООКО-201 | 6.0           | 12.63        | 13.68            | 17            |
| 0.1–1.0             | AP-1     | 1.81          | 2.96         | 3.48             | 14–8          |
| >1.0                | MICA-MG  | 1.29          | 1.25         | 1.79             | 8–6.5         |

**Погрешности анализа, связанные с градуировкой.** Погрешность определения элементов рентгенофлуоресцентным методом, которая зависит от качества полученной градуировочной зависимости, определяется отклонением средних результатов анализа от их истинного значения. Для учета влияния матрицы можно использовать способ  $\alpha$ -коррекции, алгоритм которого входит в пакет программ SUPER Q. Содержания компонентов рассчитывают по формулам:

$$c_i = b_i + d_i I_{испр},$$

где  $I_{испр} = I_i(1 + \sum \alpha_{im} I_m)$ ;  $c_i$  – содержание  $i$ -го элемента в пробе;  $I_i$  – измеренная интенсивность характеристического излучения  $i$ -го элемента (за вычетом фона);  $I_m$  – измеренные интенсивности “мешающих” элементов, входящих в состав пробы;  $b_i$ ,  $d_i$  и  $\alpha_{im}$  – коэффициенты, определяемые с помощью стандартов. Программа SUPER Q позволяет также учитывать наложение линий.

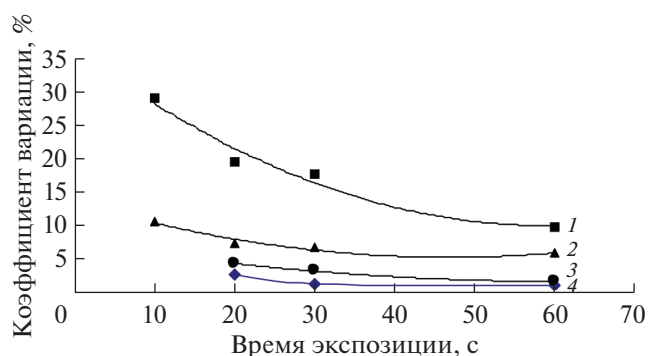
Интенсивность линии  $F_{K\alpha}$  существенно зависит от присутствующих в пробе петрогенных элементов и их содержания. Матричный эффект в этом случае, в первую очередь, связан с возбуждением линии фтора как флуоресцентным излучением этих элементов, так и их фото- и Оже-электронами. Этот эффект играет более значительную роль по сравнению с эффектом ослабления излучения. Влияние этих двух разнонаправленных факторов можно учесть с помощью уравнения  $\alpha$ -коррекции. Способ же фундаментальных параметров не учитывает особенности возбуждения флуоресцентного излучения фтора и не может быть использован при его определении как в прессованных таблеток, так и в сплавленных образцах.

И, наконец, как отмечено выше, выход флуоресценции фтора зависит от вида соединения, в состав которого он входит, т.е. от фторсодержащего минерала в горной породе. И этот фактор невозможно учесть с помощью единого градуировочного уравнения. Тем не менее, используя известные СО с известным содержанием фтора, мы получили градуировочную зависимость, погрешность которой оценивается средним стандартным отклонением ( $s$ ) 0.02%. Предел обнаружения составил 0.05%.

Надо признать, что при определении фтора в горных породах с применением полученной градуировки не может быть полной уверенности в достоверности полученных результатов. Использовали стандартные образцы различной природы, но, к сожалению, их минеральный состав, включая фторсодержащие минералы, как правило, неизвестен.

Выше отмечено, что многие авторы приходили к выводу о необходимости построения отдельных градуировок для каждого фторсодержащего минерала при использовании прессованных таблеток. Нами получены градуировки для основных фторсодержащих соединений: природного флюорита, стандартного образца апатита (АК) и синтетического криолита. В качестве матриц использовали базальт (с содержанием фтора ниже пределов обнаружения) и кремнезем. Содержание фтора в пробах менялось от 0.1 до 5%. С помощью уравнения  $\alpha$ -коррекции для флюорита и апатита получили единое градуировочное уравнение для двух вмещающих матриц. Использовали поправки на Mg, Si, P, S и учли наложение линии  $FeL\alpha$ . Погрешность градуировки составила 0.18%. Градуировка для криолита, входящего в состав также двух матриц, характеризуется значением  $s$  0.11%. Использовали поправку на натрий и учли наложение линии  $FeL\alpha$ . Полученные графики представлены на рис. 4.

Получить общую градуировочную зависимость для всех трех соединений оказалось невозможным. Чтобы воспользоваться градуировками



**Рис. 3.** Зависимость погрешности измерения интенсивности ( $V_{изм}, \%$ ) от времени экспозиции. 1 – Му-3, 2 – ООКО-201, 3 – AP, 4 – Mica-Mg.

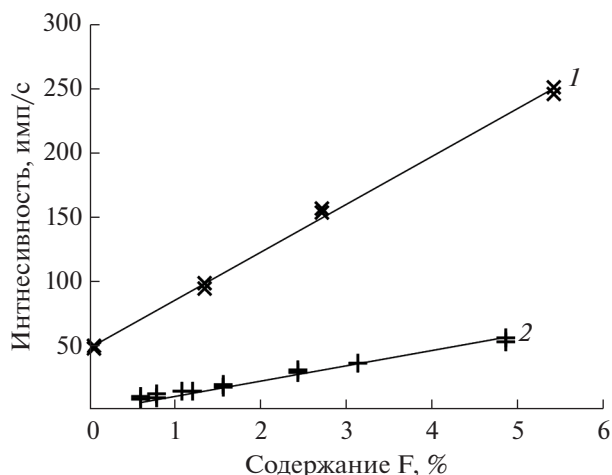


Рис. 4. Градуировочные зависимости для определения фтора, полученные на образцах криолита (1) и флюорита с апатитом (2).

для этих основных фторсодержащих минералов, необходима информация о том, какой из них входит в состав пробы. Кроме того, помимо этих основных фторсодержащих минералов имеется достаточно большое количество других.

\*\*\*

Таким образом, определение фтора в горных породах из прессованных таблеток с помощью РФА на данный момент является трудной задачей. Значительна погрешность, связанная с эффектом облоаевания. Наличие этого эффекта нельзя заранее предсказать и невозможно от него полностью освободиться, но можно снизить его влияние, промывая перед прессованием пробы в этаноле. Погрешности анализа, связанные с низким выходом флуоресценции в длинноволновой области спектра, а также влияние возможных трендов в изменении значений интенсивности при повторных измерениях линии FК $\alpha$  могут быть в какой-то степени минимизированы. Однако получение единого градуировочного уравнения для всех типов горных пород, в состав которых входят разные фторсодержащие минералы, невозможно. Это связано с необходимостью учета вида химического соединения, в состав которого входит фтор, так как этим определяется выход его флуоресценции. Этот эффект невозможно учесть, используя существующие способы расчета содержания по данным РФА, в том числе эмпирическую  $\alpha$ -коррекцию и способ фундаментальных параметров. Для каждого соединения фтора требуется построение отдельной градуировочной зависимости. Для этого необходимо располагать соответствующими наборами СО, а при определении фтора в пробе горной породы — информацией о ее минеральном составе, что не всегда представляется возможным. Кроме того, если в состав пробы входят различные фторсодержащие минералы, то задача определения

фтора из прессованных таблеток становится еще более сложной.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Когарко Л.Н., Кригман Л.Д. Фтор в силикатных расплавах и магмах. М.: Наука, 1984. 125 с.
2. Виноградов А.П. Среднее содержание химических элементов в горных породах // Геохимия. 1962. № 7. С. 555.
3. Sato K., Tanaka I., Otssuki T. X-ray fluorescence analysis in the X-ray region of 0.4 to 7 nm: Application to determination of fluorine in slags // X-Ray Spectrom. 1979. V. 8. № 9. P. 68.
4. Симаков В.А. Рентгенофлуоресцентный анализ руд и продуктов их переработки при разведке месторождений. Дис. ... докт. техн. наук. Москва, ВИМС, 2000. 252 с.
5. Gazulla F., Rodrigo M., Orduña M., Ventura M.J. Fluorine determination in glasses and glazes by WD-XRF // Eur. J. Glass Sci. Technol. A: Glass Technol. 2015. V. 56. № 3. P. 95.
6. Jecht U. Quantitative fluorine determination by X-ray fluorescence analysis // Chemiker-Zeitung. 1972. V. 96. № 2. P. 104.
7. Schäfer H.P., Meduna J.U. Routine determination of fluorine by XRF-analysis // Fresenius Z. Anal. Chem. 1987. V. 326. № 6. P. 558.
8. Iordanis A., Georgakopoulos A., Fillippidis A., Kassoli-Fournraki A. A correlation study of elements in lignite and fly ash generated in a power station // Int. J. Environ. Anal. Chem. 2001. V. 79. № 2. P. 133.
9. Gazulla M.F., Gomez M.P., Barba A., Orduña M. Chemical characterisation of geological raw materials used in traditional ceramic // Geostand. Geoanal. Res. 2004. V. 28. № 2. P. 203.
10. Plešow A. X-ray-induced alteration of specimens as crucial obstacle in XRF spectrometry of fluorine in rocks and soils // X-ray Spectrom. 2013. V. 42. № 1. P. 19.
11. Смагунова А.Н., Широколобова И.С., Козлов В.А., Коржова Е.Н., Кривченко О.С., Шаулина Л.П., Финкельштейн А.Л. Разработка стандартного образца предприятия состава цементной сырьевой смеси // Стандартные образцы. 2014. № 3. С. 92.
12. Коржова Е.Н., Ставицкая М.В., Белозерова О.Ю., Хантагаева Е.А., Смагунова А.Н. Изучение эффекта микроабсорбционной неоднородности при рентгенофлуоресцентном анализе ультрамелких частиц // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66. № 2. С. 175. (Korzhova E.N., Stavitskaya M.V., Belozerova O.Yu., Khamtagaeva E.A., Smagunova A.N. Effect of microabsorption heterogeneity in the X-ray fluorescence analysis of ultrafine particles // J. Anal. Chem. 2011. V. 66. № 2. P. 171.)
13. Boča M., Gurišová V., Šimko F. Some aspects of the wavelength dispersive X-ray determination of fluorine content in various matrices // J. Appl. Spectrosc. 2017. V. 84. № 2. P. 324.
14. Кузьмина Т.Г., Тронева М.А., Ромашова Т.В. Роль петрогенных элементов в возбуждении рентгеновской флуоресценции фтора // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 7. С. 636. (Kuz'mina T.G., Troneva M.A., Romashova T.V. role of petrogenic elements in the excitation of X-Ray fluorescence of fluorine // J. Anal. Chem. 2020. V. 75. № 7. P. 896.)
15. ОСТ 41-08-205-99. Стандарт отрасли. Методики количественного химического анализа. М.: ВИМС, 1999. 96 с.

УДК 543.052,543.062,543.383.3

## НОВЫЙ ПОДХОД К ПРОБООТБОРУ ПЛЕНОК НЕФТЕПРОДУКТОВ С ВОДНОЙ ПОВЕРХНОСТИ И ИХ ПОСЛЕДУЮЩИЙ АНАЛИЗ МЕТОДОМ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

© 2022 г. Е. Д. Грибова<sup>а</sup>, \*, Б. К. Зуев<sup>а, б</sup>, Н. А. Полотнянко<sup>а</sup><sup>а</sup>Государственный университет “Дубна”, факультет естественных и инженерных наук  
ул. Университетская, 19, Дубна, Московская обл., 141980 Россия<sup>б</sup>Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук  
ул. Косыгина, 19, Москва, 119991 Россия

\*e-mail: elena\_g67@mail.ru

Поступила в редакцию 09.06.2021 г.

После доработки 27.10.2021 г.

Принята к публикации 28.10.2021 г.

На примере образцов бензинов изучены возможности нового подхода к пробоотбору пленок нефтепродуктов с водной поверхности, позволяющего точно контролировать площадь поверхности, с которой отбираются пленки. Последующий анализ нефтепродуктов осуществляли после их десорбции с поверхности пробоотборника в органический растворитель методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием. Показано, что предлагаемый подход для используемого зонда-пробоотборника позволяет контролировать толщину пленок бензина на поверхности воды 0.4–0.02 мм.

**Ключевые слова:** нефтепродукты, пленки, пробоотбор, хромато-масс-спектрометрия.

**DOI:** 10.31857/S0044450222070064

На поверхности раздела между средами вода–воздух протекает большинство важнейших биологических и химических процессов. Несмотря на незначительную толщину поверхностного микрослоя (не более 1 мм) и отсутствие временной и структурной стабильности, микрослой аккумулирует в себе вещества антропогенной природы, в том числе тяжелые металлы, углеводороды нефти и нефтепродуктов, пластиковые частицы, пестициды, полихлорированные органические соединения.

Содержание органических веществ в поверхностном микрослое воды может значительно отличаться от их концентрации в толще воды [1]. В частности, фактор обогащения для общего органического углерода составляет 1.4–6.1, а для бактерий 24–1000. Кроме естественного формирования поверхностного микрослоя воды, существенное влияние оказывает антропогенный фактор. Ежегодно в водную экосистему по тем или иным обстоятельствам попадают от 2 до 10 млн т. нефти [2, 3]. Таким образом, разработка новых методов анализа пленок нефтепродуктов на поверхности воды, безусловно, является актуальным направлением в аналитической химии.

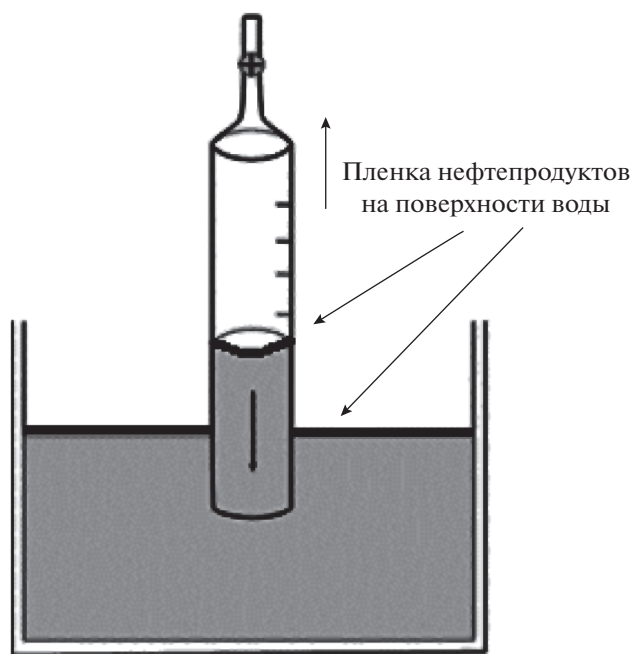
Методы контроля пленок нефтепродуктов на поверхности воды должны позволять оценивать толщину пленки, выявлять и идентифицировать

источники поступления нефтепродуктов, исследовать процессы трансформации органических веществ в поверхностном микрослое воды.

В настоящее время используют различные методики, основанные на пробоотборе нефтяной пленки с границы раздела фаз с дальнейшим определением органических веществ, формирующих пленку, физико-химическими методами анализа [4]. Недостатком методов пробоотбора, как правило, является низкая точность определения площади поверхности, с которой осуществляется пробоотбор пленки [5].

Цель настоящей работы – на примере бензина изучить возможности принципиально нового подхода к пробоотбору пленок нефтепродуктов с поверхности воды с помощью зонда-пробоотборника с последующим их определением методом хромато-масс-спектрометрии.

При анализе нефтепродуктов и идентификации их следов преимущественно используют хроматографические методы, обладающие высокой селективностью, воспроизводимостью, разрешающей способностью и чувствительностью [6, 7]. Метод газовой хроматографии (ГХ) позволяет определять не только общее содержание нефтепродуктов, но и идентифицировать их состав.



**Рис. 1.** Принцип работы и устройство для пробоотбора пленки органического вещества с поверхности воды.

Как правило, метод основан на извлечении нефтепродуктов из пробы воды экстрагентом и анализе полученного экстракта на газовом хроматографе [8]. Для определения углеводов часто используют метод ГХ с пламенно-ионизационным детектированием [9, 10], однако в сочетании с масс-спектрометрическим детектором этот метод имеет ряд неоспоримых преимуществ как в части надежности идентификации аналитов, так и с точки зрения повышения чувствительности и селективности их определения.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для апробации нового метода пробоотбора пленки органического вещества с поверхности воды в настоящей работе использовали бензин, являющийся на сегодняшний день самым массовым нефтехимическим продуктом. Производство бензина различных марок только в России оценивается в 40 млн т.

Бензиновые пленки определенных толщин создавали нанесением различного объема бензина на поверхность воды известной площади. Следует отметить, что на поверхности воды практически невозможно создать очень тонкую пленку органического вещества. При нанесении маленьких объемов бензина не формируется сплошная пленка, а образуются органические участки – “островки” и свободные от пленки зоны поверхности. В данной работе при создании пленки бензина на во-

де ограниченной площади наносили точно измеренный объем бензина, достаточный для формирования сплошной равномерной пленки.

Для отбора пленки применяли оригинальный зонд-пробоотборник, позволяющий точно определять площадь поверхности воды, с которой отбирается пленка органического вещества. На конструкцию зонда и методику его применения получены патенты РФ [11, 12]. Пробоотборник выполнен в виде полого цилиндра с внутренним диаметром 20 мм и высотой 100 мм. В верхней части пробоотборника имеется вентиль тонкой регулировки. При открытом вентиле пробоотборник вертикально опускали в емкость с водой и органической пленкой. Далее вентиль прикрывали и пробоотборник аккуратно извлекали (поднимали) с водной поверхности (рис. 1). При этом объем воды, находящейся во внутренней части цилиндра, медленно удалялся. В результате этого процесса происходил перенос пленки с поверхности воды, ограниченной внутренним сечением цилиндрического пробоотборника, на его внутреннюю поверхность (подобно методу Ленгмюра–Блоджетт). После извлечения воды отверстие пробоотборника закрывали. Далее компоненты пленки десорбировали с внутренней поверхности пробоотборника с помощью тетрахлоорметана (ос.ч. 18-4 Вектон, Россия). Для увеличения эффективности экстракции пробоотборник вращали вокруг оси цилиндра.

Для анализа экстракта использовали газовый хроматограф модели 7820A с масс-селективным детектором 5977E (Agilent, США). Хроматограф оснащен кварцевой капиллярной хроматографической колонкой HP-5MS (сополимер 5%-дифенил-95%-диметилсилоксан) длиной 30 м, внутренним диаметром 0.25 мм и толщиной пленки неподвижной фазы 0.25 мкм. Растворы хроматографировали в следующем режиме программирования температуры термостата колонки: начальная температура 35°C, время выдерживания при начальной температуре – 5 мин, в интервале 35–120°C температурный градиент 5°C/мин, в интервале 120–220°C температурный градиент 30°C/мин, конечная температура – 220°C, время выдерживания при конечной температуре 1 мин; температура испарителя 220°C, коэффициент деления потока в испарителе 30 : 1, газ-носитель – гелий, объемная скорость газа-носителя через колонку – 1.0 см<sup>3</sup>/мин. Объем вводимой в испаритель пробы 1 мкл. Масс-спектры получали ионизацией электронами с энергией 70 эВ, температура ионизационной камеры 230°C, квадруполя – 150°C, интерфейса – 250°C. Диапазон развертки массовых чисел (*m/z*) 35–400; скорость сканирования 10 сканов за 0.5 с на декаду массовых чисел. Для идентификации органических соединений использовали библиотеку масс-спектров “NIST”.

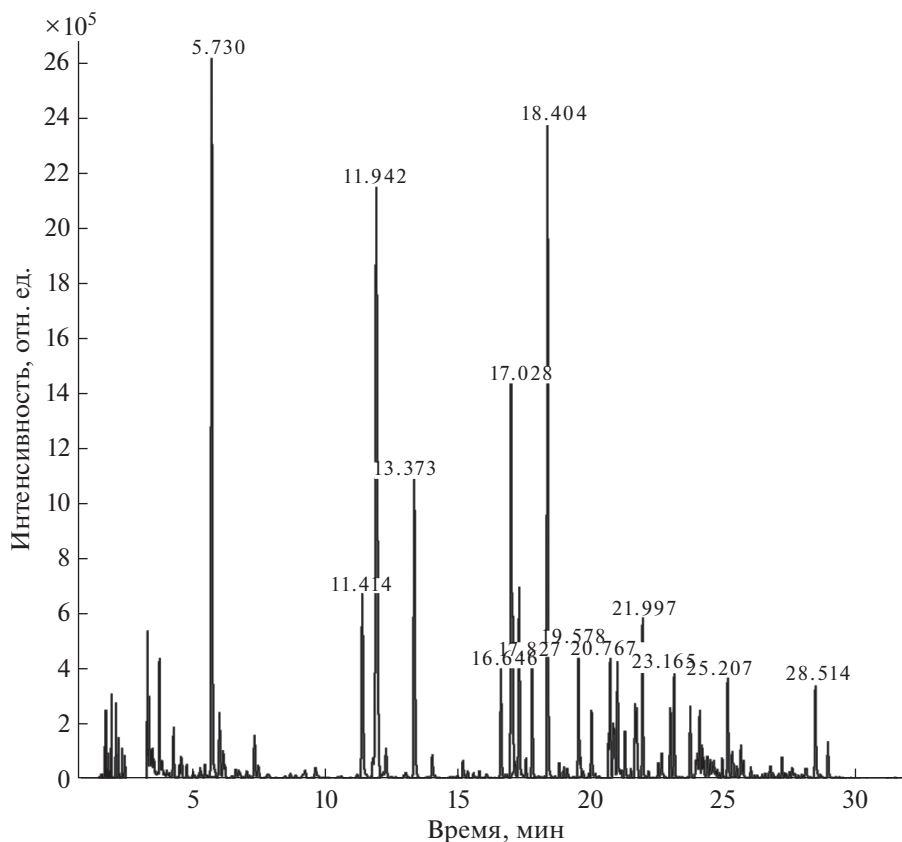


Рис. 2. Хроматограмма по полному ионному току образца бензина: 5.73 мин – толуол; 11.94 мин – *m*-ксилол; 17.03 мин – *n*-этилтолуол; 18.40 мин – 1,2,4-триметилбензол.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Бензины представляют собой многокомпонентную смесь углеводородов C<sub>5</sub>–C<sub>9</sub>, поэтому для контроля толщины пленки на поверхности воды необходимо выбрать маркер, присутствующий в смеси. В качестве маркера может быть выбран углеводород с низкой летучестью, по содержанию которого в экстрагенте можно судить о толщине пленки.

Хроматограмма раствора пленки бензина в тетрахлорметане по полному ионному току представлена на рис. 2. Как видно, основными компонентами исследованных образцов бензина являются толуол (время удерживания 5.73 мин); *m*-ксилол (время удерживания 11.94 мин), *n*-этилтолуол (время удерживания 17.03 мин) и 1,2,4-триметилбензол (время удерживания 18.40 мин). Так как 1,2,4-триметилбензол является наименее летучим веществом, входящим в состав бензина (температура кипения 169.35°C), и дольше остальных компонентов может оставаться в составе пленки, он был выбран в качестве маркера для оценки толщины пленки на водной поверхности.

В масс-спектре электронной ионизации 1,2,4-триметилбензола присутствует основной

пик с *m/z* 105, принадлежащий фрагментам [M–CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, и молекулярный пик с *m/z* 120. С целью повышения селективности и получения хроматограммы с наименьшим количеством пиков масс-селективное детектирование проводили в режиме мониторинга выбранных ионов (SIM) по иону с *m/z* 120.

Хроматограмма образца бензина, полученная в режиме мониторинга выбранных ионов SIM, представлена на рис. 3.

Дальнейший анализ раствора бензина в экстрагенте осуществляли в режиме мониторинга избранных ионов по площади пика, соответствующего 1,2,4-триметилбензолу, выбранному в качестве маркера. Так как количество анализа в экстракте значительно превышало диапазон используемых для анализа концентраций, экстракт разбавляли в 100 раз.

Градуировочные графики строили, используя серию растворов бензина в тетрахлорметане с точно известной концентрацией в диапазоне 0.001–1.0 мг/мл. Записывали хроматограммы каждого раствора в одинаковых условиях и измеряли площадь пика 1,2,4-триметилбензола на каждой хроматограмме. По полученным данным



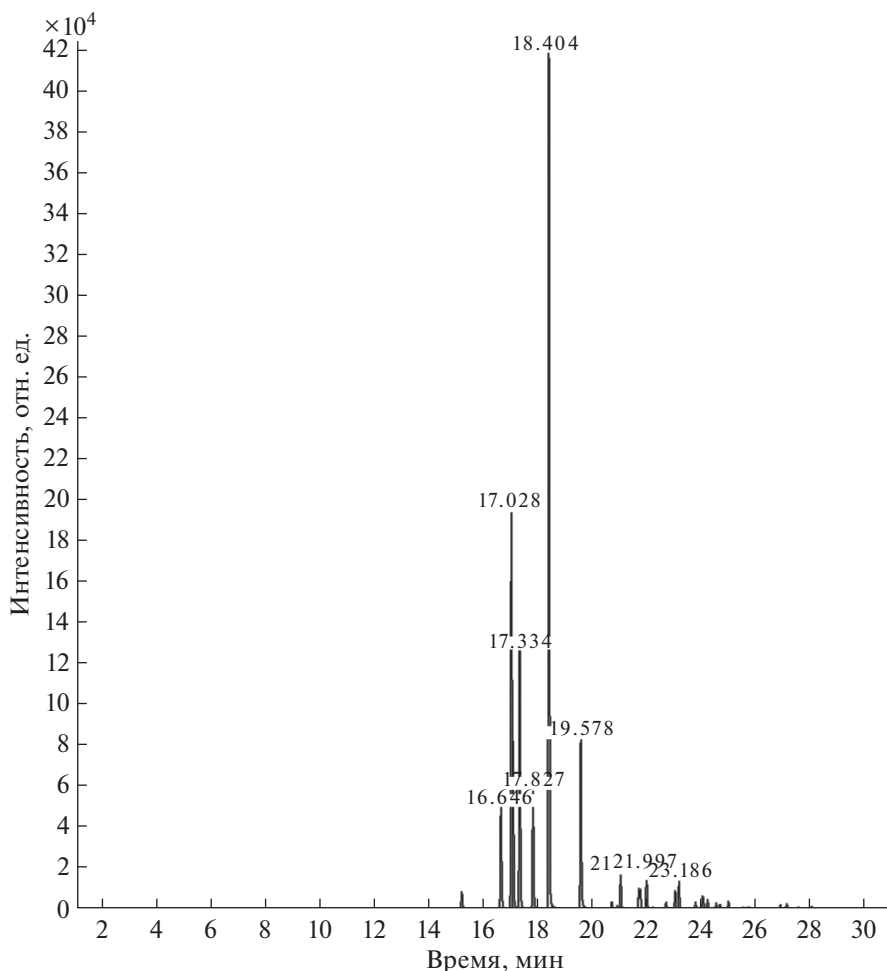


Рис. 3. Хроматограмма образца бензина в режиме мониторинга избранных ионов ( $m/z$  120).

строили зависимость площади пика от концентрации вещества в растворе. Затем строго в тех же условиях хроматографировали пробу анализируемого раствора с неизвестной концентрацией и измеряли площадь пика определяемого вещества.

Уравнение градуировочной зависимости имело вид ( $R^2 = 0.9994$ ):

$$c = 1.82 \times 10^{-6} S + 9.33 \times 10^{-3}, \quad (1)$$

где  $c$  – концентрация бензина в экстрагенте (тетрахлорметан), мг/мл;  $S$  – площадь пика 1,2,4-триметилбензола, отн. ед.

Для изучения ограничений и проверки правильности предлагаемого подхода готовили пленки бензина на водной поверхности различной толщины от 1.0 до 0.02 мм. Объем бензина, попадающего в пробоотборник, рассчитывали из площади сечения пробоотборника и высоты (толщины) пленки.

После десорбции с внутренней поверхности пробоотборника экстракт разбавляли в 100 раз и

определяли концентрацию бензина в экстрагенте по уравнению (1). Зная объем используемого экстрагента, определяли количество бензина, попавшего в пробоотборник. Результаты эксперимента представлены в табл. 1 и указывают на то, что предложенный метод и пробоотборник удовлетворительно работают в области толщин пленок от 0.39 до 0.022 мм. Возможно, этот подход будет работать и в случае более тонких пленок бензина. Однако, как было отмечено выше, слишком тонкие пленки могут создавать островковую структуру и, следовательно, найденное количество нефтепродуктов не будет характеризовать толщину пленки.

Пленки толщиной свыше 0.4 мм, по-видимому, невозможно определять. Вероятно, это связано с размерами пробоотборника (см. табл. 1) и вызвано по меньшей мере двумя причинами: первая связана с полнотой переноса пленки на внутреннюю поверхность пробоотборника, так как поверхность может удерживать ограниченное количество органического вещества; вторая со-

**Таблица 1.** Количество бензина в пробоотборнике для пленок различной толщины

| Толщина пленки бензина, мм | Масса бензина в пробоотборнике, мг | Найдено бензина в пробоотборнике методом ГХ, мг |
|----------------------------|------------------------------------|---|
| 1.04                       | 166.7 ± 1.7                        | 69.0 ± 4.9                                      |
| 0.76                       | 121.5 ± 1.2                        | 60.2 ± 3.0                                      |
| 0.53                       | 85.0 ± 0.9                         | 64.5 ± 4.4                                      |
| 0.39                       | 62.8 ± 0.6                         | 64.8 ± 6.5                                      |
| 0.34                       | 54.8 ± 0.5                         | 52.4 ± 5.2                                      |
| 0.17                       | 27.0 ± 0.3                         | 27.9 ± 2.8                                      |
| 0.13                       | 21.3 ± 0.2                         | 22.7 ± 2.3                                      |
| 0.11                       | 17.5 ± 0.2                         | 17.9 ± 1.8                                      |
| 0.022                      | 3.50 ± 0.04                        | 3.7 ± 0.4                                       |

стоит в следующем – при больших значениях поверхностной концентрации и ограниченном объеме экстрагента не происходит полной экстракции пленки.

Предлагаемый метод пробоотбора и последующего анализа позволяет контролировать пленки нефтепродуктов на водной поверхности толщиной 0.4 мм и менее. На наш взгляд, предлагаемый подход может быть успешно применен для изучения процессов деградации пленок нефтепродуктов со временем или под действием внешних факторов, таких как температура, свет.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Зуев Б.К., Чудинова В.В., Коваленко В.В., Ягов В.В. Условия формирования химического состава морского поверхностного микрослоя воды и особенности анализа органического вещества в нем // Геохимия. 2001. № 7. С. 773.
2. Патин С.А. Нефть и экология континентального шельфа. М.: ВНИРО, 2017. Т. 1. 326 с.
3. Израэль Ю.А., Цыбань А.В. Антропогенная экология океана. М.: Наука, 2009. 532 с.
4. Родин А.А., Другов Ю.С. Экологические анализы при разливах нефти и нефтепродуктов: практическое руководство. М: Лаборатория знаний, 2020. 273 с.
5. Зуев Б.К., Коваленко Е.В., Кульбачевская Е.В., Оленин А.Ю., Ягов В.В. Определение концентрации нефтепродуктов и масел в пленках на поверхности воды с помощью твердоэлектролитного анализатора // Журн. аналит. химии. 2001. Т. 56. № 5. С. 543.
6. Srogi K. Monitoring of environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: A review // Environ. Chem. Lett. 2007. V. 5. № 4. P. 169.
7. Темердашев З.А., Колычев И.А., Мусорина Т.Н., Аракельян Э.В. Хромато-масс-спектрометрическая идентификация полиароматических углеводородов в термически измененных нефтепродуктах и продуктах термодеструкции органических материалов различного происхождения // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72. № 9. С. 845.
8. ГОСТ 31953-2012. Вода. Определение нефтепродуктов методом газовой хроматографии. М.: Стандартинформ, 2013. 19 с.
9. ГОСТ Р 52714-2018. Бензины автомобильные. Определение индивидуального и группового углеводородного состава методом капиллярной газовой хроматографии. М.: Стандартинформ, 2019. 11 с.
10. Кузнецова О.Ю., Балак Г.М., Приваленко А.Н., Пуляев Н.Н. Применение газовой хроматографии для исследования углеводородного состава и идентификации нефтепродуктов // Международный технико-экономический журн. 2015. № 6. С. 100.
11. Зуев Б.К., Зевакин Е.А., Зевакин Д.Е., Моржухина С.В., Грибова Е.Д., Полотнянко Н.А., Морозов И.А. Устройство для отбора плёнок нефти и нефтепродуктов с поверхности воды. Патент на изобретение № 2679232 РФ от 06.02.2019.
12. Зуев Б.К., Полотнянко Н.А., Воробьева М.Ю., Роговая И.В., Моржухина С.В., Сараева А.Е., Филоненко В.Г., Королева М.В., Травкина А.В. Способ для отбора пленок нефти и нефтепродуктов с поверхности воды и устройство для его осуществления. Патент на изобретение № 2604843 РФ от 22.11.2016.

УДК 541.183

## КАРТА СЕЛЕКТИВНОСТИ НЕПОДВИЖНЫХ ФАЗ – ГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД СИСТЕМАТИЗАЦИИ И ПОИСКА УСЛОВИЙ ДЛЯ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ ПОЛЯРНЫХ ВЕЩЕСТВ

© 2022 г. Е. А. Зайцева<sup>а</sup>, \*, А. М. Долгоносов<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук  
ул. Косыгина, 19, Москва, 119991 Россия

\*e-mail: lil-dante@mail.ru

Поступила в редакцию 22.06.2021 г.

После доработки 24.09.2021 г.

Принята к публикации 24.09.2021 г.

На основании теоретического описания селективности жидких фаз методом трехпараметрической характеристики предложен графический способ классификации фаз в газовой хроматографии в виде карты селективности, представляющей собой двумерную диаграмму в координатах полярность–гидрофильность. В методе трехпараметрической характеристики используется выражение энергии межмолекулярного взаимодействия через вклады неполярных, полярных и водородных связей в асимптотическом приближении, полученном с помощью теории обобщенных зарядов и нового квантовомеханического представления об энергии и вероятности образования водородной связи. Достоинством способа является то, что параметры, используемые в математических выражениях, имеют физический смысл, переносимы и могут быть найдены без проведения экспериментов. Выявлены связи между характеристиками неподвижных фаз и их структурой. Карта селективности как способ классификации позволяет рассматривать газохроматографические жидкие неподвижные фазы в диапазоне от низкополярных/низкогидрофильных до высокополярных/высокогидрофильных фаз. С другой стороны, применение принципа подобия свойств в сочетании с картой селективности позволяет выбрать наиболее селективную фазу к заданным анализам. Этот выбор может быть сделан априори – без проведения экспериментов. Дан пример выбора селективной неподвижной фазы для разделения близких по свойствам веществ с помощью карты селективности.

**Ключевые слова:** газовая хроматография, межмолекулярные взаимодействия, неподвижная фаза, полярность, гидрофильность, энергия адсорбции.

DOI: 10.31857/S0044450222070131

С каждым новым этапом развития газовая хроматография (ГХ) сталкивается со все более сложными случаями анализа трудноразделимых смесей. Например, современный метод хромато-масс-спектрометрии испытывает серьезные трудности при анализе смесей изомеров [1, 2]. Эффективной мерой в решении подобных задач является улучшение разделения за счет повышения селективности неподвижной фазы (НФ), используемой в разделяющей колонке.

В настоящее время существует множество НФ, синтезированных под различные аналитические задачи. В связи с этим на первый план выходит выбор НФ из уже имеющихся, а трудоемкий синтез новых фаз становится менее актуальным. При этом возникает необходимость точной классификации существующих фаз.

Широко известны и активно применяются многопараметрические методы Роршнайдера, МакРейнольдса [3–6] и Абрахама [7, 8] для классификации фаз по индексам Ковача, получаемым с помощью специальных хроматографических экспериментов; в противоположность им существуют одномерные схемы гидрофобно-гидрофильного баланса [9], где единственный параметр гидрофобности фазы определяется в экспериментальной системе октанол–вода. Однако статистический анализ большого массива данных, проведенный в работе [10], показал, что для сравнения селективности полярных фаз необходимо и достаточно двух независимых параметров; отмечена избыточность многопараметрических схем и недостаточность одномерных схем классификации. Недостатками существующих методов классификации НФ являются их эмпиричность и



трудоемкость, а также слабая предсказательная способность, невозможность предсказания характеристик фаз по строению. Избежать указанных недостатков, очевидно, возможно с помощью теории межмолекулярных взаимодействий (ММВ). Отсутствие такого подхода объясняется сложностью задачи для существующих неэмпирических методов и грубостью применяемых полупэмпирических методов.

Авторы настоящей статьи развивают теоретические представления о ММВ общего типа, которые положены в основу метода трехпараметрической характеристики (ТПХ) [11–17]. Модель базируется на теории обобщенных зарядов (ТОЗ) [18], которая представляет собой квантово-статистический неэмпирический подход для описания межатомных взаимодействий; в частности, ТОЗ была успешно применена для расчета адсорбции неполярных веществ [19, 20]. В качестве следствия метода ТПХ в настоящей статье представлен новый графический способ классификации НФ – карта селективности.

Цели статьи – расчет положения на карте селективности множества НФ, принадлежащих к различным группам, и применение карты селективности для повышения селективности газовой хроматографии, в частности, при разделении изомеров полярных веществ.

## ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

**Основные положения модели межмолекулярных взаимодействий и метода трехпараметрической характеристики.** Выражение общего вида для полной энергии сорбции молекулы на НФ, содержащее три независимых вклада энергии [11–14]:

$$U = U_{\text{np}}(Q_i, Q_{\text{sp}}, r) + U_{\text{dp}}(\mu_i^2, \mu_{\text{sp}}^2, r) + n_{\text{H}} E_{\text{H}}(r), \quad (1)$$

где  $U_{\text{np}} = U(Q_i, Q_{\text{sp}}, r)$  – энергия неполярного взаимодействия,  $U_{\text{dp}} = U(\mu_i^2, \mu_{\text{sp}}^2, r)$  – энергия полярного взаимодействия,  $E_{\text{H}} = E_{\text{H}}(r)$  – энергия Н-связи,  $n_{\text{H}}$  – вероятность образования Н-связи,  $Q_i, Q_{\text{sp}}$  – обобщенные заряды (ОЗ) аналита  $i$  и НФ соответственно,  $\mu_i, \mu_{\text{sp}}$  – дипольные моменты аналита  $i$  и НФ,  $r$  – расстояние между центрами молекул аналита и поверхности неподвижной фазы.

Компоненты выражения (1) для полной энергии межмолекулярного взаимодействия:

1. Энергия неполярного взаимодействия, выведенная в ТОЗ в виде потенциала типа Леннарда–Джонса с теоретическими коэффициентами [18]:

$$U_{\text{np}}(r) = Q_i Q_{\text{sp}} u_b(r);$$

$$u_b(r) = \frac{e^2}{a_0} \left[ 1.938 \times 10^5 (r/a_0)^{-12} - 5.115 (r/a_0)^{-6} \right], \quad (2)$$

где  $r$  – межмолекулярное расстояние,  $e$  – элементарный заряд,  $a_0$  – радиус Бора.

2. Энергия полярного взаимодействия, которая для случая аморфной среды выражается как сумма ориентационного взаимодействия Рейнгаума–Кеезома [21, 22] и индукционного взаимодействия Дебая–Фалькенхагена [23, 24]:

$$U_{\text{dp}} = U_{\text{or}} + U_{\text{ind}} = - \left( \frac{2\mu_i^2 \mu_{\text{sp}}^2}{3k_b T} + \alpha_{\text{sp}} \mu_i^2 + \alpha_i \mu_{\text{sp}}^2 \right) r^{-6}, \quad (3)$$

где  $\alpha = aQ$  – поляризуемость молекулы, пропорциональная ее ОЗ с коэффициентом  $a = 4.948a_0^3$ ,  $k_b$  – константа Больцмана,  $T$  – температура.

3. Энергия водородной связи в виде произведения квантовомеханической оценки нижнего предела энергии Н-связи и вероятности ее образования [21–26]:

$$U_{\text{Hisp}} \approx - \frac{3e^2 a_0}{16 r^2} \cdot n_{\text{Hisp}}. \quad (4)$$

Вероятностный характер процесса образования Н-связи обусловлен узкой направленностью связи, что отражается на потенциальной функции ММВ в виде узкого “колодца”. Искомая вероятность выражается через отношение размеров колодца и связываемых молекул. При оценке геометрических величин учтена пропорциональность ОЗ площади проекции молекулярного фрагмента на плоскость, разделяющую молекулы [27].

$$n_{\text{Hisp}} = \frac{\sqrt{Q_{(a)i} Q_{(d)sp}} + \sqrt{Q_{(d)sp} Q_{(a)sp}}}{2(Q_{(a)i} Q_{(d)i})^{1/4} \sqrt{Q_{(\text{mol})sp}}}, \quad (5)$$

где  $Q_{(a)}$  – ОЗ акцепторной группы,  $Q_{(d)}$  – ОЗ донорной группы,  $Q_{(\text{mol})}$  – ОЗ молекулы.

Из формулы (5) следует, что если у молекулы аналита акцепторная группа является одновременно донорной группой для Н-связи, т.е. при  $Q_{(a)i} = Q_{(d)i}$ , то выражение (5) принимает вид:

$$n_{\text{H}} = \frac{\sqrt{Q_{(d)sp}} + \sqrt{Q_{(a)sp}}}{2\sqrt{Q_{(\text{mol})sp}}}. \quad (6)$$

Приравнивание производной функции (1) к нулю дает уравнение для равновесного расстояния:  $U' = 0 \rightarrow r_{\text{eq}} = f(Q_i, Q_{\text{sp}}, \mu_i^2, \mu_{\text{sp}}^2, n_{\text{Hisp}})$ , подставляя его в исходное выражение, получаем равновесную энергию  $U_{\text{min}}$ . Отношение равновесной энергии  $U_{\text{min}}$  к вкладу неполярного взаимодействия  $U_{\text{np}}$  дает величину *приведенной энергии*:

$$u = 1 + \frac{U_{\text{dp}}}{U_{\text{np}}} + \frac{E_{\text{H}}}{U_{\text{np}}} = A^2 + B \cdot A^{1/3}, \quad (7)$$

где введены обозначения  $A = 21.88 \cdot \frac{n_{\text{Hisp}}}{Q_i \cdot Q_{\text{sp}}}$ ,  
 $B = 1 + c \left( \frac{\mu_i^2}{Q_i} + \frac{\mu_{\text{sp}}^2}{Q_{\text{sp}}} + c_T \frac{\mu_i^2 \mu_{\text{sp}}^2}{Q_i Q_{\text{sp}}} \right)$ ,  $c = \frac{0.9676}{e^2 a_0^2}$ ,  
 $c_T = \frac{0.1347}{a_0^3 k_B T}$ . Величины  $A$  и  $B$  содержат характери-  
 стики взаимодействующих объектов в виде отно-  
 шений квадратов дипольных моментов и вероят-  
 ности образования Н-связи к величине ОЗ. Ад-  
 сорбент и молекула описываются аналогичными  
 параметрами, поэтому уравнение (7) применимо  
 как для адсорбции, так и для общего случая  
 ММВ.

Согласно своему определению приведенная  
 энергия имеет две особенности: она обратно про-  
 порциональна обобщенному заряду молекулы,  
 входящему в член неполярной энергии (2), и  
 равна 1 для неполярных объектов. Подстав-  
 ляя в соотношение с указанными свойствами  
 связь ОЗ  $n$ -алкана с индексом Ковача  
 $(Q_n = (6n + 2)^{3/4} \equiv (0.06I_n + 2)^{3/4}$ , где  $n$  – угле-  
 родное число), получим удобное приближение для  
 приведенной энергии адсорбции молекулы  $i$  в об-  
 щем случае [28]:

$$u_i \approx Q_i^{-1} (0.06I_i + 2)^{3/4}, \quad (8)$$

где  $I_i$  – индекс Ковача аналита на исследуемой  
 НФ.

Итак, согласно (7) и (8) приведенная энергия  
 связывает параметры аналита и НФ с параметра-  
 ми хроматографического удерживания.

**Метод трехпараметрической характеристики.** В  
 выражения для величин  $A$  и  $B$  входят характери-  
 стики неподвижной фазы в виде следующих от-  
 ношений:

*полярность НФ* – отношение квадрата диполь-  
 ного момента НФ к ее ОЗ:

$$v_{\text{sp}} = \frac{\mu_{\text{sp}}^2}{Q_{\text{sp}}}, \quad (9)$$

*гидрофильность НФ* – отношение вероятности  
 образования Н-связи фазой к ее ОЗ:

$$w_{\text{sp}} = \frac{n_{\text{Hisp}}}{Q_{\text{sp}}}. \quad (10)$$

В приведенной формуле (10) вероятность об-  
 разования Н-связи рассматривается как характе-  
 ристика НФ. Это связано с тем, что, имея доста-  
 точное количество степеней свободы, молекула  
 аналита подходит к поверхности НФ так, что все-  
 гда способна образовать с ней Н-связь. Поэтому  
 вероятностный характер возникает из-за того,  
 что молекула НФ должна принять правильное

положение, вопреки мешающему влиянию со-  
 седних молекул.

Полярность и гидрофильность отвечают за  
 разные свойства НФ, выражения (9) и (10) явля-  
 ются математическими определениями искомых  
 характеристик НФ.

*Прямая задача моделирования.* Характеристики  
 полярности и гидрофильности могут быть опре-  
 делены из структурных формул молекул путем  
 расчета ОЗ, дипольных моментов и условных ве-  
 вероятностей участия в образовании Н-связи. Та-  
 кой теоретический, или априорный, расчет рас-  
 сматривает прямая задача моделирования. Реше-  
 ние прямой задачи – нахождение характеристик  
 НФ из структурной формулы – сводится к не-  
 скольким этапам:

1. Определение средней энергии электрона ко-  
 валентной связи  $E_1$  и радиуса экранирования  $r_s$ .  
 Энергия  $E_1$  определяется как энергия образова-  
 ния молекулы, деленная на число ее валентных  
 электронов. Радиус экранирования определяется  
 по формуле

$$r_s = 1.710e\sqrt{a_0/E_1}, \quad (11)$$

где  $e$  – элементарный заряд,  $a_0$  – Борковский радиус.

Выбирается фрагмент приповерхностного  
 слоя НФ, занимающий объем полусферы экра-  
 нирования и содержащий в себе функциональ-  
 ные группы. Участок НФ в полусфере экра-  
 нирования отражает свойства всей НФ при взаимо-  
 действии с малой молекулой газовой фазы;

2. Расчет ОЗ по формуле [25]:

$$Q_{\text{sp}} = \frac{\kappa}{0.177} \left( \frac{e^2}{a_0 E_1} \right)^{3/2}, \quad (12)$$

где  $\kappa$  – плотность укладки молекул жидкости  
 [26]. Величина  $\kappa$  обычно принимает значение,  
 близкое к 0.7 для малых молекул, а для длинных  
 нитевидных молекул близкое к 0.9.

3. Определение дипольного момента  $\mu_{\text{sp}}$  фраг-  
 мента. Для расчета используется программа мате-  
 матического моделирования Chem3D [29] или  
 справочные данные для функциональных групп,  
 входящих в выбранный фрагмент;

4. Расчет показателя Н-связи  $n_{\text{H}}$  по формуле (6);

5. Расчет полярности НФ  $v_{\text{sp}}$  по формуле (9);

6. Расчет гидрофильности НФ  $w_{\text{sp}}$  по формуле (10).

Таким образом, по структурной формуле мак-  
 ромолекулы НФ можно найти полярность и гид-  
 рофильность, т.е. определить координаты НФ на  
 диаграмме, названной *картой селективности*.  
 Наличие двух координат совпадает с выводами  
 статистического анализа в работе [10], указываю-  
 щего на необходимость и достаточность двух не-

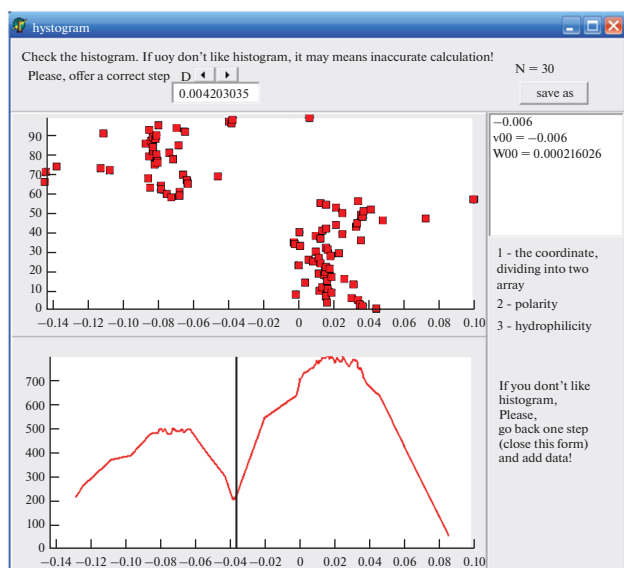


Рис. 1. Распределение молекул аналитов по множествам гидрофильности в программе STARMAP.

зависимых параметров для описания селективности полярной НФ.

**Обратная задача моделирования.** Часто неподвижная фаза представлена полимерами, структура которых не раскрывается производителями. В этом случае, чтобы определить характеристики НФ, необходимо решить обратную задачу моделирования по получению характеристик селективности из данных хроматографического эксперимента по индексам удерживания молекул на изучаемой неподвижной фазе.

Этапы решения обратной задачи:

1) Получение экспериментальных данных по удерживанию различных аналитов (индекс  $i$ -го аналита) на исследуемой НФ. Индекс Ковача для  $i$ -го аналита рассчитывается относительно соседних  $n$ -алканов с числом углеродных атомов  $m$  и  $m+1$  по известной формуле:

$$I_i = 100 \times \left( m + \ln \frac{k_i}{k_m} / \ln \frac{k_{m+1}}{k_m} \right), \quad (44)$$

где  $I_i$  — индекс Ковача рассматриваемой молекулы (с индексом  $i$ ),  $m$  — индекс  $n$ -алкана, содержащего  $m$  атомов углерода,  $k$  — фактор удерживания, который определяется как  $k = t'/t_0$  ( $t'$  — исправленное время удерживания,  $t_0$  — мертвое время) в изотермическом режиме.

Существуют обширные литературные данные по индексам удерживания, которые могут быть взяты для расчета [30]. При обработке сложных экспериментов с переменной температурой для нахождения индексов Ковача удобна программа INKOVERTI [31];

2) Определение ОЗ аналита (формулы и примеры применения специальных программ для расчета GEOMOL и THENRY можно найти, например, в работе [32]) и дипольного момента аналита (справочные данные или стандартные программы математического моделирования) по структурной формуле.

$$3) \text{ Расчет полярности аналита: } v_i = \frac{\mu_i^2}{Q_i};$$

4) Расчет характеристик  $v_{0i}$  и  $S_i$  по формулам, следующим из выражения (5) [15]:

$$v_{0i} = \frac{\sqrt{u_i} - 1 - cv_i}{c \cdot (1 + c_T v_i)}, \quad (13)$$

$$S_i = 7.62 \times 10^{-3} u_i - \frac{[1 + c \cdot (v_i + v_{sp} + c_T v_i v_{sp})]^2}{[1 + c \cdot (v_i + v_{sp} + c_T v_i v_{sp})]^{1/3}}, \quad (14)$$

и построение гистограммы распределения значений  $S_i$ .

5) Разделение множества аналитов на классы  $M_0$  и  $M_1$ . Если гистограмма имеет два максимума, то в соответствии с пиками точки разбиваются на два множества: точки левой части относятся к множеству  $M_0$ , а правой — к множеству  $M_1$ . Если максимум на гистограмме один — процедура завершается с результатом по полярности НФ  $v_{sp}$  (усредненным в соответствии с выражением (15)) и нулевой гидрофильностью. На рис. 1 представлен скриншот программы STARMAP [33], разработанной специально для решения обратной задачи с распределением молекул аналитов по множествам и гистограммой этого распределения; вертикальная линия на нижнем графике отделяет множества друг от друга.

6) Расчет полярности НФ для множества молекул  $M_0$  по формуле:

$$v_{sp} = \frac{\sum V_{0i} V_i}{\sum V_i}. \quad (15)$$

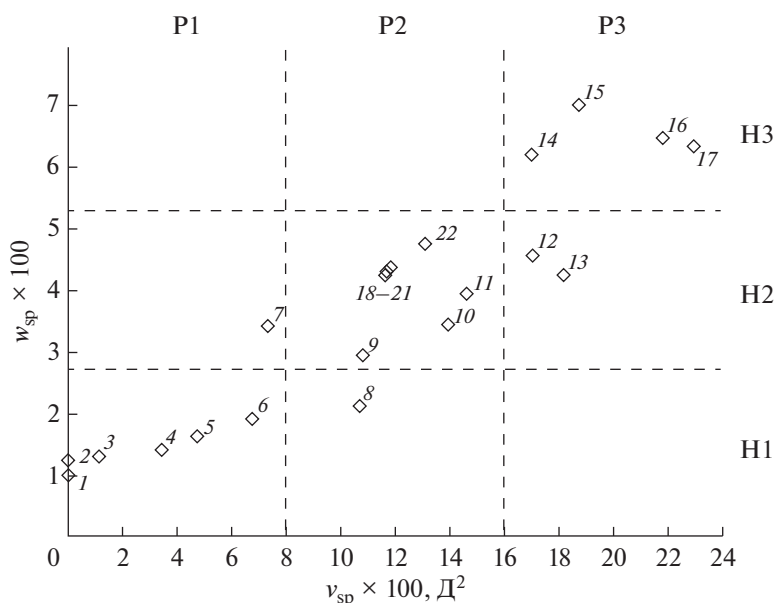
7) Расчет гидрофильности НФ для множества молекул  $M_1$  по формуле:

$$w_{sp} = \frac{\sum S_i}{\sum w_i}. \quad (16)$$

Методика расчета позволяет определить характеристики НФ по данным всего двух полярных молекул — по одной из множеств  $M_0$  и  $M_1$ .

Таким образом, характеристики селективности можно рассчитать из индексов Ковача и определить координаты НФ на карте селективности.

В работе [16] показано, что результаты расчета по прямой и обратной задаче согласуются между собой, что подтверждает внутреннюю непротиво-



**Рис. 2.** Карта селективности хроматографических фаз. 1 – Сквалан, 2 – Apiezon L, 3 – Versilube F-50, 4 – OV-7, 5 – DC-710, 6 – OV-25, 7 – Ucon 50 HB-280X, 8 – OV-225, 9 – XE-60, 10 – Silar-5CP, 11 – XF-1150, 12 – Reoplex 400, 13 – Silar-7CP, 14 – Diglycerol, 15 – THEED, 16 – TCEP, 17 – Cyanoethylsucrose, 18 – PEG 20M, 19 – PEG 20M-TPA, 20 – PEG 6000, 21 – PEG 4000, 22 – PEG 1000.

речивость применяемой модели ММВ. Ниже это соответствие демонстрируется на классе широко используемых в ГХ фазах на основе полиэтиленгликоля (ПЭГ) с различными молекулярными массами.

**Карта селективности** – это двумерная диаграмма в координатах полярность–гидрофильность ( $v_{sp}$  –  $w_{sp}$ ) с нанесенными на нее характеристиками селективности неподвижных фаз.

На рис. 2 представлена карта селективности НФ, составленная по результатам расчета характеристик селективности для каждой фазы из экспериментальных данных – индексов Ковача для двух молекул (пентанон-2 и бутанол-1), принадлежащих к разным классам гидрофильности.

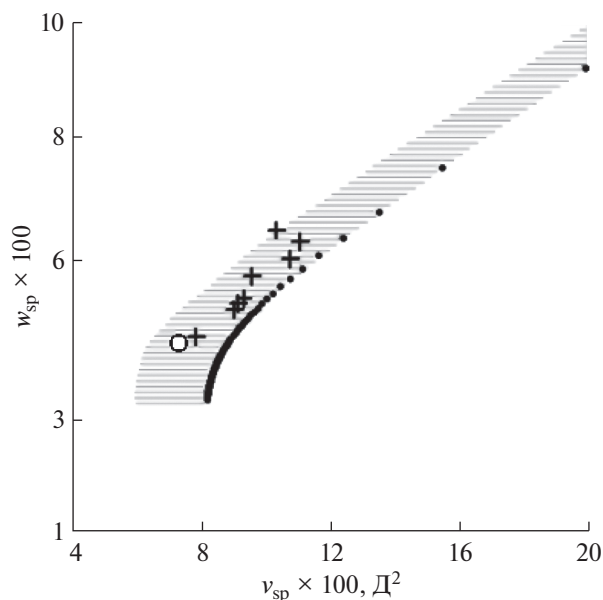
Карту селективности можно разделить условно на девять областей (см. рис. 2): 3 – по абсциссе (P1: слабо-, P2: средне-, P3: высокополярные) и 3 – по ординате (H1: слабо-, H2: средне- и H3: сильногидрофильные). Это удобный и наглядный способ классификации НФ.

В область P1H1 попадают фазы №№ 1–6, в область P1H2 – фаза № 7, P2H1 – фаза № 8, в область P2H2 – фазы №№ 9–11, №№ 18–22, в область – P3H2 фазы №№ 12–13, в область – P3H3 фазы №№ 14–17, в области P1H3, P2H3 и P3H1 из рассмотренных фаз не попала ни одна.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

**Зависимости характеристик от структуры фазы на карте селективности.** *Неполярные неподвижные фазы.* При рассмотрении карты селективности стоит отметить ненулевую гидрофильность у НФ № 1 – Сквалана. Сквалан постулируется абсолютно неполярной эталонной НФ в методе Роршнайдера, но при расчете с помощью метода ГПХ имеет небольшую гидрофильность. Это связано с тем, что реальная НФ под названием Сквалан – в отличие от чистого вещества – имеет в себе примеси детергента, который использовался при приготовлении хроматографической колонки, который и придает ей небольшую гидрофильность [30]. То же самое можно сказать про НФ Apiezon L (№ 2 на карте селективности) – это смесь углеводородов, неполярная фаза, но имеет примесь детергента, придающего ей ненулевую гидрофильность [30]. Это относится не только к перечисленным фазам, а ко всем низко- и малополярным НФ, попадающим в область P1H1, эмпирические способы классификации фаз этот тонкий момент не учитывают, что является их недостатком.

*Неподвижные фазы на основе полиэтиленгликоля.* На рис. 3 представлена карта селективности для ПЭГ-НФ с различной молекулярной массой. Эти фазы селективны к кислородсодержащим соединениям; по нашей классификации они все от-

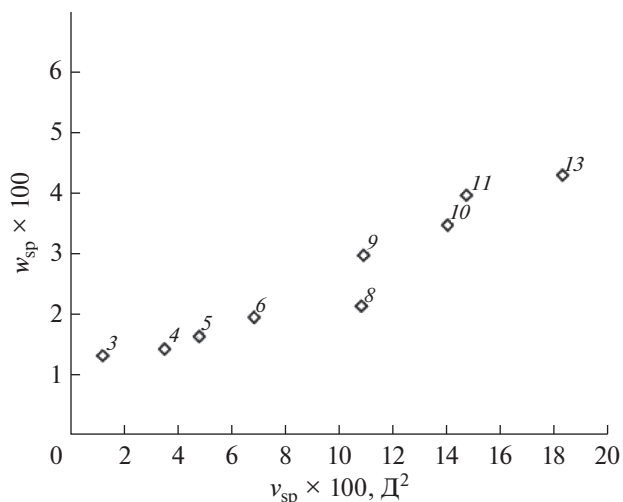


**Рис. 3.** Карта селективности для неподвижных фаз на основе полиэтиленгликоля с различными массами. Обозначения: (+) – данные, рассчитанные по константам РМР, дискретная кривая – теоретически рассчитанные характеристики ПЭГ с разными молекулярными массами, шаг равен молекулярной массе мономера. Заштрихована область погрешностей.

носятся к области P2H2 на рис. 2, т.е. обладают средней полярностью и средней гидрофильностью. На карту нанесены характеристики ПЭГ-НФ с величинами полярности и гидрофильности, рассчитанными априори и из экспериментальных данных в виде констант Роршайндера–Мак-Рейнольдса (РМР) для молекул, принадлежащих к разным классам гидрофильности: полярность рассчитана по пентанону-2, гидрофильность – по бутанолу-1. Расчет по прямой задаче дает зависимость полярности (9) и гидрофильности (10) ПЭГ от их массы, что представлено на графике в виде дискретной кривой. Результаты расчета из констант РМР по обратной задаче даны в виде крестиков [16].

Серой штриховкой указан коридор систематической погрешности, в который попадают все экспериментальные точки, связанные с занижением величины полярности на постоянную величину при расчете ее из констант РМР [14].

Поведение большинства экспериментальных точек на графике соответствует теоретической зависимости величин полярности и гидрофильности от массы ПЭГ, однако точки для некоторых НФ выпадают из правильной последовательности, хотя принадлежат той же кривой. Это может быть объяснено возможной ошибкой в указании производителем молекулярной массы полимера.



**Рис. 4.** Карта селективности ПСО НФ. Нумерация фаз соответствует подписи к рис. 2 (см. табл. 1).

Результаты сравнения показывают хорошее соответствие между положениями точек теоретических и экспериментальных характеристик ПЭГ, определяющих их селективность в качестве НФ. Используемая модель для проведения расчетов по прямой и обратной задаче является внутренне непротиворечивой.

Отметим, что НФ Усон 50-НВ-280Х (ей на рис. 3 соответствует кружок) по составу подобна фазам на основе полиэтиленгликоля с большой молекулярной массой – это эфир поли(оксиэтиленокси-пропилен)гликоля. Поэтому ее положение на карте приблизительно соответствует теоретической зависимости характеристик селективности от массы полимера, обнаруженной для ПЭГ.

**Фазы на основе полисилоксана.** Рассмотрим НФ с различными заместителями в полисилоксане (ПСО НФ), это фазы №№ 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 13. На рис. 4 приведен фрагмент карты селективности (см. рис. 2) для ПСО НФ, в табл. 1 – составы фаз [34].

Наблюдается зависимость характеристик полярности и гидрофильности от состава для этих НФ – они возрастают при увеличении количества и степени электроотрицательности функциональных групп. Отметим, что в парах фаз №№ 8 и 9, 10 и 11 гидрофильность цианопропильных групп ниже, чем гидрофильность цианоэтильных групп в полисилоксане. По-видимому, это связано с тенденцией к убыванию таутомерных эффектов переноса протона в ряду HCN, CH<sub>3</sub>CN, ..., RC<sub>n</sub>H<sub>2n</sub>CN, обеспечивающих донорные свойства нитрильных групп при водородном связывании.

**Высокополярные и высокогидрофильные неподвижные фазы.** Фазы на карте селективности (см. рис. 2) №№ 12, 14, 15, 16 и 17 имеют составы,

**Таблица 1.** Состав полисилоксановых неподвижных фаз [34]

| № на рис. 2 | Название НФ    | Состав                         |
|-------------|----------------|--------------------------------|
| 3           | Versilube F-50 | Метил 10% трихлорфенилсилоксан |
| 4           | OV-7           | 20% фенилметилсилоксан         |
| 5           | DC-710         | 50% фенилметилсилоксан         |
| 6           | OV-25          | 75% фенилметилсилоксан         |
| 8           | OV-225         | 25% цианпропилметилсилоксан    |
| 9           | XE-60          | 25% цианэтилметилсилоксан      |
| 10          | Silar-5CP      | 50% цианпропилфенилсилоксан    |
| 11          | XF-1150        | 50% цианэтилметилсилоксан      |
| 13          | Silar-7CP      | 78% цианпропилфенилсилоксан    |

представленные в табл. 2 [34]. Приведенные в табл. 2 фазы относятся к областям РЗН2 и РЗН3 на карте селективности. Большое количество полярных функциональных групп обеспечивает их высокую полярность и гидрофильность.

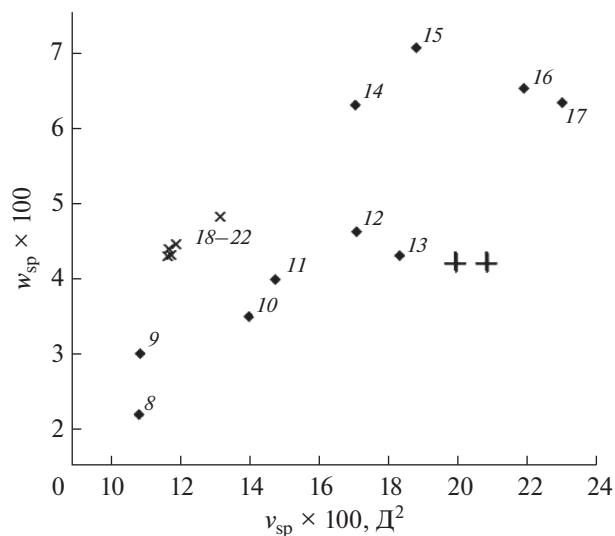
**Выбор селективной неподвижной фазы.** Метод ТПХ способен не только классифицировать НФ, но и решать конкретные аналитические задачи по выбору фазы, наиболее селективной к целевым анализам. Выбор НФ осуществляется в соответствии с принципом близости свойств — чем больше НФ похожа по свойствам на целевые анализы, тем сильнее ее селективность реагирует на изменение этих свойств. Это важно в случае разделения веществ, у которых разница в индексах Ковача незначительна — порядка 10 единиц. Воспользовавшись картой селективности и нанеся на нее характеристики анализов, можно выбрать селективную НФ. Логику принципа подобия свойств стоит пояснить.

Из опыта известно, что сродство отдельных молекул к собственной жидкой фазе максимально. Если нанести на карту характеристики жидкой фазы целевых анализов, то наиболее селективная НФ будет иметь максимально близкие координаты.

На рис. 5 представлен фрагмент карты селективности (см. рис. 2) с нанесенными на нее характеристиками пары анализов. В качестве трудно-разделяемых молекул выбраны изомеры сложных эфиров — пропилацетат и этилпропионат, разница в индексах Ковача которых на большинстве НФ меньше 10 единиц. Характеристики анализов рассчитывают из структурной формулы как характеристики их жидкой фазы, а не отдельной молекулы (см. табл. 3) с использованием формул (6), (9)–(11).

Наиболее селективной к заданному анализу, является та НФ, которая на карте расположена максимально близко к его координатам. На карте селективности, представленной на рис. 5, это будет НФ № 13, что подтверждается данными [35].

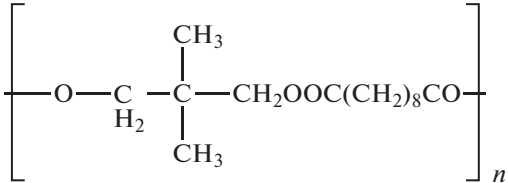
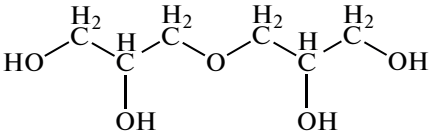
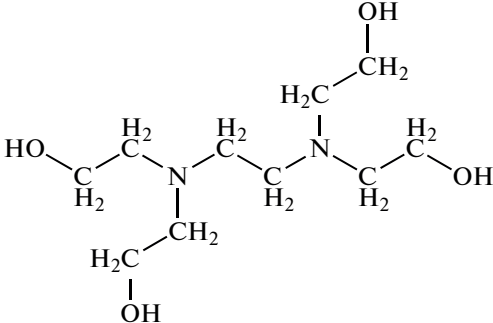
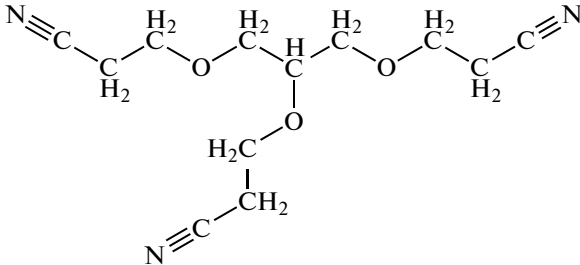
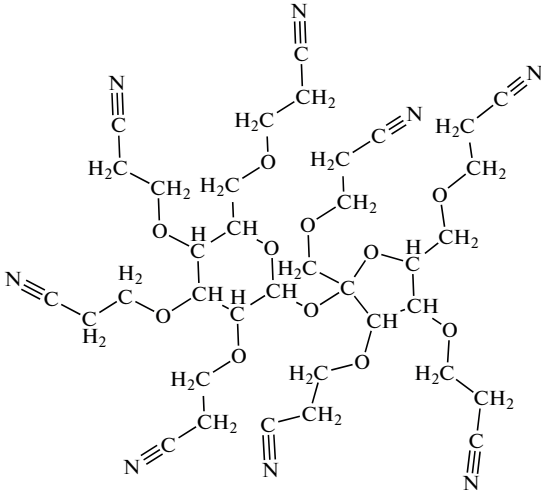
В особо сложных случаях, когда изомеры не различаются по полярности и гидрофильности, например, при разделении геометрических изомеров, описанное применение карты селективности для выбора НФ необходимо дополнить условием для критерия, отвечающего за селективность НФ к геометрическим изомерам. Эта задача подробно рассмотрена в работе [17].



**Рис. 5.** Карта селективности неподвижных фаз с нанесенными характеристиками целевых анализов, обозначенными символом +. Нумерация неподвижных фаз соответствует подписи к рис. 2.



Таблица 2. Составы неподвижных фаз (нумерация фаз соответствует подписи к рис. 2)

| №  | Название НФ       | Состав  |
|----|-------------------|---|
| 12 | Reoplex 400       | Полинеопентилгликоль себацинат<br>    |
| 14 | Diglycerol        | Диглицерин<br>                        |
| 15 | TNEED             | Тетрагидроксиэтил-этилендиамин<br>   |
| 16 | ТСЕР              | 1,2,3-Трис(2-цианоэтокси)пропан<br> |
| 17 | Cyanoethylsucrose | Цианоэтилсахароза<br>               |

**Таблица 3.** Характеристики изомеров сложных эфиров

| Характеристика | Пропилацетат | Этилпропионат |
|----------------|--------------|---------------|
| $Q$            | 15.22        | 15.22         |
| $\mu, Д$       | 1.78         | 1.74          |
| $n_H$          | 0.64         | 0.64          |
| $v_i, Д^2$     | 0.208        | 0.199         |
| $w_i$          | 0.042        | 0.042         |

\* \* \*

Разработан подход к описанию сорбционных свойств жидких неподвижных фаз для газовой хроматографии по их структуре. Найдено, что относительную хроматографическую селективность фаз удобно характеризовать двумя математически определенными параметрами – полярностью и гидрофильностью. Следствием развиваемой модели является графический способ классификации жидких фаз по свойствам полярности и гидрофильности. Карта селективности позволила не только выявить неидеальности в существующих методах классификации фаз, но и открыть закономерности в свойствах гомологов полиэтиленгликолей и цианзамещенных полисилоксанов. Применение карты селективности в сочетании с принципом подобия свойств дает возможность выбора неподвижных фаз, наиболее селективных к заданным анализам, причем этот выбор может быть сделан чисто теоретически, по структуре, без проведения экспериментов.

*Настоящее исследование выполнено при поддержке Проекта Государственного задания (Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук, № FMUS-2019-24).*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Обухова Е.Н., Буряк А.К.* Хромато-масс-спектрометрическое определение изомеров в допинговом контроле // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 9. С. 652.
2. *Kupriyanova O.V., Milyukov V.A., Shevyrin V.A., Shafran Y.M., Rusinov V.L., Lebedev A.T.* Synthesis and determination of analytical characteristics and differentiation of positional isomers in the series of n-(2-methoxybenzyl)-2-(dimethoxyphenyl)ethanamine using chromatography–mass spectrometry // Drug Testing and Analysis. 2020. V. 12. № 8. P. 1157.
3. *Rohrschneider L.* Die vorausberechnung von gaschromatographischen retentionszeiten aus statistisch ermittelten "polaritäten" // J. Chromatogr. A. 1965. V. 17. P. 1.
4. *Rohrschneider L.* Eine Methode zur Charakterisierung von gaschromatographischen Trennflüssigkeiten // J. Chromatogr. A. 1966. V. 22. P. 6.
5. *Rohrschneider L.* Eine Methode zur Charakterisierung von gaschromatographischen Trennflüssigkeiten : II. Die Berechnung von Retentionsverhältnissen // J. Chromatogr. 1969. V. 39. P. 383.
6. *McReynolds W.O.* Characterization of some liquid phases // J. Chromatogr. Sci. 1970. V. 8. P. 685.
7. *Abraham M.H., Ibrahim A., Zissimos A.M.* Determination of sets of solute descriptors from chromatographic measurements // J. Chromatogr. A. 2004. V. 1037. P. 29.
8. *Abraham M.H.* Scales of solute hydrogen-bonding: Their construction and application to physicochemical and biochemical processes // Chem. Soc. Rev. 1993. V. 22. P. 73.
9. *Долгоносков А.М., Рудаков О.Б., Суровцев И.С., Прудковский А.Г.* Колоночная аналитическая хроматография как объект математического моделирования. Воронеж: ГЕОХИ РАН – Воронежский ГАСУ, 2013. С. 400.
10. *Juvancz Z., Cserhaiti T., Markides K.E., Bradshaw J.S., Lee M.L.* Characterization of some new polysiloxane stationary phases by principal component analysis // Chromatographia. 1994. V. 38. P. 227.
11. *Долгоносков А.М., Зайцева Е.А.* Характеристика полярности неподвижной фазы в газовой хроматографии на основе теоретического описания межмолекулярных взаимодействий. I. Случай отсутствия водородных связей // Сорбционные и хроматографические процессы. 2014. Т. 14. № 4. С. 578.
12. *Долгоносков А.М., Зайцева Е.А.* Характеристика полярности неподвижной фазы в газовой хроматографии на основе теоретического описания межмолекулярных взаимодействий. II. Случай водородных связей // Сорбционные и хроматографические процессы. 2015. Т. 15. № 3. С. 321.
13. *Зайцева Е.А., Долгоносков А.М.* Теоретическая оценка характеристик селективности газохроматографических неподвижных фаз // Сорбционные и хроматографические процессы. 2018. Т. 18. № 5. С. 676.
14. *Зайцева Е.А., Долгоносков А.М.* Трехпараметрическая модель межмолекулярных взаимодействий как основа для классификации и выбора неподвижных фаз для газовой хроматографии // Сорбционные и хроматографические процессы. 2019. Т. 19. № 5. С. 525.
15. *Долгоносков А.М.* Полярность и гидрофильность – фундаментальные независимые характеристики хроматографических неподвижных фаз // Сорбционные и хроматографические процессы. 2015. Т. 15. № 3. С. 312.
16. *Долгоносков А.М., Зайцева Е.А.* Модель межмолекулярного взаимодействия с образованием водородной связи и ее применение для характеристики селективности хроматографических фаз на примере полиэтиленгликолей // Журн. структ. химии. 2020. Т. 61. № 8. С. 1300.
17. *Долгоносков А.М., Зайцева Е.А.* Факторы, определяющие селективность неподвижных фаз к геометрическим изомерам жирных кислот в анализе методом ГЖХ // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 12. С. 1119.



18. Долгоносов А.М. Модель электронного газа и теория обобщенных зарядов для описания межатомных взаимодействий и адсорбции. М., ЛИБРОКОМ, 2009. 167 с.
19. Долгоносов А.М. Обобщенный заряд в описании адсорбции в области Генри // Журн. физ. химии. 2002. Т. 76. № 6. С. 1107.
20. Долгоносов А.М. Теория обобщенных зарядов для межатомных взаимодействий // Журн. физ. химии. 2001. Т. 75. № 10. С. 1813.
21. Reinganum M. Kräfte elektrischer Doppelpunkte nach der statistischen Mechanik und Anwendung auf molekulare und Ionenwirkungen // Annalen der Physik. 1912. Bd. 343. № 8. S. 649.
22. Keesom W.H. Die van der Waalsschen Kohäsionskräfte // Phys. Zeit. 1921. V. 22. P. 129–141.
23. Debye P. Van der Waals cohesion forces // Phys. Zeit. 1920. V. 21. P. 178.
24. Falkenhagen H. Kohäsion und Zustandsgleichung bei Dipolgasen // Phys. Zeit. 1922. V. 23. P. 87.
25. Долгоносов А.М. Модель образования водородной связи между молекулами пара и жидкости // Журн. структ. химии. 2020. Т. 61. № 7. С. 1107.
26. Долгоносов А.М. Представление о водородной связи, следующее из теории обобщенных зарядов // Журн. структ. химии. 2019. Т. 60. № 11. С. 1765.
27. Dolgonosov A.M. Calculation of adsorption energy and Henry law constant for nonpolar molecules on a nonpolar uniform adsorbent // J. Phys. Chem. B. 1998. V. 102. P. 4715.
28. Долгоносов А.М. Связь энергии адсорбции с индексом Ковача, вытекающая из теории обобщенных зарядов // Сорбционные и хроматографические процессы. 2015. Т. 15. № 2. С. 168.
29. <http://www.cambridgesoft.com> (электронный сайт ПО Cambridgesoft) (07.06.2021 г.).
30. McReynolds W.O. Gas Chromatographic Retention Data. Preston. Technical Abstracts Co. Niles. 1966. P. 335.
31. Прудковский А.Г., Долгоносов А.М. Инструмент для оценки индекса Ковача по времени удерживания вещества в газовой хроматографии // Журн. аналит. химии. 2008. Т. 63, № 9. С. 935.
32. Долгоносов А.М., Прудковский А.Г. Барьеры внутримолекулярного вращения по температурной зависимости константы Генри в области нарушения жесткости адсорбированной молекулы // Журн. физ. химии. 2008. Т. 82. № 5. С. 931.
33. Зайцева Е.А. Дис. ... канд. хим. наук. Москва: Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, 2021. 123 с. [http://www.geokhi.ru/Thesis/2021/Кандидатские/Зайцева/Диссертация\\_Зайцева\\_ЕА.pdf](http://www.geokhi.ru/Thesis/2021/Кандидатские/Зайцева/Диссертация_Зайцева_ЕА.pdf) (21.06.2021 г.)
34. Пецев Н., Коцев Н. Справочник по газовой хроматографии. М.: Мир, 1987.
35. Lu C., Guo W., Yin C. Quantitative structure-retention relationship study of the gas chromatographic retention indices of saturated esters on different stationary phases using novel topological indices // Anal. Chim. Acta. 2006. V. 561. P. 96.

УДК 902/904+543.544.054.92+543.51

## ИССЛЕДОВАНИЕ ФРАГМЕНТОВ ЛАКОВЫХ ОБЪЕКТОВ ИЗ АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ РАСКОПОК МОГИЛЬНИКА ОРГОЙТОН (ЗАБАЙКАЛЬЕ) МЕТОДОМ ПИРОЛИТИЧЕСКОЙ ГАЗОВОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

© 2022 г. К. Б. Калинина<sup>а</sup>, Н. Н. Николаев<sup>а</sup>, М. В. Мичри<sup>а</sup>, А. И. Ревельский<sup>б, \*</sup><sup>а</sup>Государственный Эрмитаж, лаборатория научной реставрации станковой живописи  
Дворцовая набережная, 34, Санкт-Петербург, 190000 Россия<sup>б</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет  
Ленинские горы, 1, стр. 3, Москва, 119991 Россия

\*e-mail: sorbent@yandex.ru

Поступила в редакцию 13.10.2021 г.

После доработки 02.11.2021 г.

Принята к публикации 03.11.2021 г.

Сочетание пиролиза и метода газовой хромато-масс-спектрометрии значительно расширяет возможности последнего, в том числе для анализа высокомолекулярных органических соединений. К такому роду материалов относится большинство нерастворимых полимеров и восточные лаки, используемые в ряде стран Восточной Азии, например в Китае, Японии, Бирме, при создании изделий различного назначения. Пиролиз, совмещенный с термометилированием, позволяет не только определить вид восточного лака, но и идентифицировать добавленные к нему другие органические материалы. Особый интерес этот метод представляет при изучении сильно деградированных археологических лаковых объектов. В данной работе исследован ряд артефактов, обнаруженных в ходе археологических раскопок на территории Забайкалья в могильнике Оргойтон.

**Ключевые слова:** пиролитическая газовая хромато-масс-спектрометрия, восточные лаки, термохимический анализ, термометилирование.

DOI: 10.31857/S0044450222070076

Интенсивное развитие физико-химических методов анализа расширяет возможности исследования химического состава объектов различной природы, в том числе и при технико-технологических исследованиях археологических объектов. В идентификации органических материалов, входящих в состав артефактов (в частности, сильно деградировавших археологических материалов), представляющих из себя нелетучие высокомолекулярные соединения, помогает метод пиролитической хромато-масс-спектрометрии. Продукты пиролиза, термически осуществляемого гидролиза и метилирования с использованием гидроксида тетраметиламмония [1–4] или силилирования с использованием гексаметилдисилазана [5], зарегистрированные методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС), позволяют идентифицировать состав исходных образцов.

Восточный лак служит для сохранения и декорирования поверхностей различных материалов. Основным компонентом восточного лака получают из сока лаковых деревьев, произрастающих в Восточной Азии. Этот густой сок, фактически смо-

ла, затвердевает в определенных температурно-влажностных условиях при контакте с воздухом, и после полимеризации в обычно применяемых растворителях нерастворим. Обработанная поверхность нанесенного лака очень прочная, обладает высокой степенью блеска.

В Восточной Азии существуют три типа лаковых деревьев и все они относятся к семейству Анакардиевых: *Rhus verniciflua* (*Toxicodendron vernicifluum*), растущие в Китае, Японии и Кореи; *Rhus succedanea* (*Toxicodendron succedaneum*) во Вьетнаме и на Тайване; и *Melanorrhoea usitata* (*Gluta usitata*) в Бирме, Таиланде и Камбодже [5–9].

Соки деревьев из семейства Анакардиевых представляют собой сложные эмульсии типа вода в масле, состоящие из замещенных дигидроксибензолов, замещенных фенолов, углеводов, гликопротеинов и фермента лакказы [10]. Водная фаза состоит из смеси воды (20–30%), гидрофильных моно-, олиго- и полисахаридов (5–6%) и ферментов (1%), последние отвечают за полимеризационное превращение сока в шпательную по-

лимерную сетчатую структуру [10]. Масляная фракция, из которой в основном и формируется лак при полимеризации, состоит из смеси дигидроксibenзолов (60–70%), замещенных в положениях 3 или 4 насыщенными и ненасыщенными линейными алифатическими боковыми цепями, и небольшого количества фенольных соединений (3%). Сок также содержит нерастворимые в воде гликопротеины (2–3%). Общее название смеси компонентов масляной фазы для сока деревьев *Rhus verniciflua* – урушиол, для *Rhus succedanea* – лаккол, для *Melanorrhoea (Gluta) usitata* – тициол. Для смесей компонентов урушиола и лаккола наиболее характерна структура пирокатехина (1,2-дигидроксibenзола), замещенного в 3-ем положении алифатическими цепями C15 и C17 соответственно. Для тициола характерны производные пирокатехина и резорцина (1,3-дигидроксibenзола) с алифатическими заместителями C17 и алкилбензолами [11–13].

Пленка восточного лака имеет очень высокую твердость и практически нерастворима, поэтому исследование такого материала затруднено. Пиролитическая хромато-масс-спектрометрия позволяет анализировать такие объекты, так как в этом случае пиролиз (или термохимолizu) подвергается непосредственно навеска образца, а не его раствор или экстракт. При этом не только минимизированы потери искоемых веществ, но и значительно сокращена продолжительность анализа (пробоподготовка, практически отсутствует). Показано, что использование пиролиза в сочетании с онлайн метилированием является более предпочтительным методом, так как позволяет детектировать большее количество компонентов лака (включая полярные вещества), чем при использовании прямого пиролиза [6, 14].

Метод термохимолizu позволяет идентифицировать многочисленные компоненты лакового покрытия. Показано, что в результате термометилирования в сочетании с пиролизом образцов лаков Анакардии [12, 13, 15, 16] методом ГХ-МС регистрируются различные дигидроксиалкилбензолы, дигидроксифенилбензолы, фенолы, фенилфенолы, алкилбензолы и углеводороды, которые можно рассматривать в качестве биомаркеров лаков. Для каждой разновидности восточных лаков характерны определенные гомологические ряды указанных веществ, с различной максимальной длиной боковой цепи и с наибольшим содержанием одного из членов того или иного гомологического ряда.

Например, показано, что в ходе прямого пиролиза лака уруси (из *Toxicodendron vernicifluum*), на полученной хроматограмме присутствует гомологический ряд дигидроксиалкилбензолов, имеющих максимальную боковую цепь длиной 15 атомов углерода (пентадецилкатехол  $C_{15}H_{31}C_6H_3(OH)_2$ ), фенолов и углеводородов с длиной цепи от C3 до C15,

причем в наибольшем количестве наблюдается предельный углеводород C7. В случае лаккола (из *Toxicodendron Succedanea*) присутствует та же серия, но максимальная длина боковой цепи в гомологическом ряду дигидроксиалкилбензолов составляет 17 атомов углерода (гептадецилкатехол  $C_{17}H_{31}C_6H_3(OH)_2$ ), а в ряду углеводородов присутствуют C3–C17, при этом в наибольшем количестве присутствует предельный углеводород C9. Для тициола (из *Gluta usitata*) характерно присутствие значительного количества алкилбензолов с относительно меньшими количествами дигидроксифенилбензолов и фенилфенолов [6, 9, 15, 17].

При проведении термометилирования в условиях пиролиза на хроматограмме присутствует гомологический ряд анизолов и диметоксибензолов, которые образуются соответственно из фенолов и замещенных дигидроксibenзолов, и которые также в равной степени характерны для трех видов Анакардии [16].

Использование пиролитической хромато-масс-спектрометрии в сочетании с одновременным осуществлением термометилирования не только позволяет определить конкретный тип восточного лака, но и дает возможность идентифицировать большее количество органических компонентов слоев лакового покрытия [16, 18]. В результате применения этого метода образуется широкий спектр маркерных соединений, которые могут быть использованы для выявления как различных содержащих дигидроксибензол компонентов, так и различных добавок к лаку, таких как масла, натуральные смолы, белки, крахмал и некоторые пигменты. Данный метод позволяет регистрировать как неполярные компоненты, так и полярные соединения, такие как жирные кислоты. Большую часть компонентов регистрируют в виде метиловых производных исходных соединений. Для анализа достаточно очень незначительного количества образца (от 0.2 мг), что очень важно при исследовании объектов культурного наследия. Одно из существенных преимуществ термохимолizu с использованием гидроксида тетраметиламмония состоит в том, что он позволяет обнаруживать химические соединения, образовавшиеся в результате старения и окисления всех трех видов лаков Анакардии. Впервые этот факт был установлен Чиавари и Маззео [19], когда они обнаружили в искусственно состаренном лаке уруси неидентифицированное соединение с характеристическим значением  $m/z = 294$ . Это соединение также обнаруживали в китайских лакированных старинных артефактах. Его идентифицировали позднее [16] как метил-8-(2,3-диметоксифенил)октаноат и назвали в честь впервые опубликовавшего его автора мацеиновой кислотой. Это соединение является представителем гомологического ряда метиловых эфиров  $\omega$ -(2,3-

диметоксифенил) алкановых кислот  $C_6-C_{12}$ , которые авторы публикации [16] назвали кислотными катехолами (acid catechols). Эти соединения являются продуктами реакций окисления ненасыщенных боковых цепей замещенных дигидроксibenзолов.

Мацеиновая кислота ( $n = 8$ ) является доминирующим членом гомологического ряда метиловых эфиров  $\omega$ -(2,3-диметоксифенил) алкановых кислот, образующихся в состаренном урушиоле и тициоле. Для лаккола таковым является арлеиновая кислота ( $n = 10$ ) [16].

Использование термохимолита в сочетании с активно развивающейся хемометрикой позволяет осуществлять обработку больших баз данных зарегистрированных химических соединений [16, 18].

Объектами данного исследования были фрагменты лаковых деталей китайской колесницы, которая, вероятно, представляла небольшой одноосный экипаж [20], и лакового покрытия практически полностью разрушенных неидентифицируемых, скорее всего, столовых предметов, найденных в “княжеском” кургане могильника Оргойтон. Могильник находится на территории Забайкалья на левом берегу реки Селенги на территории Джидинского района Республики Бурятия. Памятник был открыт в конце XIX века Ю.Д. Талько-Гринцевичем, соотнесен им с азиатскими гуннами (хунну или сюнну) и датируется I в. до н.э.—I в.н.э. [21].

Целью данной работы являлось исследование органических компонентов лакового покрытия указанных выше образцов методом пиролитической хромато-масс-спектрометрии с термометилированием и выявление органических соединений-маркеров восточных лаков.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалом для исследований служили фрагменты лакированного обода и разделителей колесницы, а также мелкие фрагменты небольших лаковых декоративных изделий, найденных на различных участках могильника Оргойтон. Фрагменты лакового покрытия предметов отбирали с использованием стереомикроскопа Carl Zeiss Stemi 2000C (Германия). Толщина слоя лакового покрытия в среднем составляла 300 мкм.

Органические материалы изучали с помощью метода пиролитической хромато-масс-спектрометрии с термометилированием [4, 15, 22]. Для этого использовали хроматограф Agilent 7890B с квадрупольным масс-селективным детектором Agilent 5977NT MSD фирмы “Agilent Technologies” (США) и пиролитическую систему double-shot pyrolyzer PY-3030iD (Frontier Lab, Япония). Пиролизер был связан обогреваемым интерфей-

сом с хроматографом. Температура интерфейса пиролизера  $320^\circ\text{C}$ .

Хроматографическое разделение продуктов термохимолита исследуемого материала проводили на капиллярной колонке HP-5MS (5%-фенил)-метилполисилоксан (30 м, 250 мкм, 0.25 мкм). Температура испарителя  $350^\circ\text{C}$ , деление потока 1 : 20, время включения катода источника ионов — через две минуты после старта программы нагрева термостата колонок. Скорость потока гелия через колонку 1.0 мл/мин (в режиме постоянного потока). Программа нагревания колонки: начальная температура  $40^\circ\text{C}$ , поддерживаемая 2 мин, скорость нагревания  $6.0^\circ\text{C}/\text{мин}$ , конечная температура  $350^\circ\text{C}$ , изотермический режим при этой температуре 30 мин. Температура интерфейса между газовым хроматографом и масс-спектрометром  $320^\circ\text{C}$ , температура источника ионов масс-спектрометра  $230^\circ\text{C}$ , температура масс-анализатора  $150^\circ\text{C}$ . Электронная ионизация с энергией 70 эВ. Данные регистрировали в режиме полного ионного тока. Диапазон сканирования от 50 до 600 а.е.м., скорость сканирования 10 сканов в секунду.

Навески исследуемых фрагментов лакового покрытия массой около 0.2 мг помещали в нержавеющий стальной микрососуд объемом 50 мкл. Туда же с помощью шприца для хроматографии вводили 5 мкл 25%-ного раствора гидроксида тетраметиламмония в метаноле (Sigma Aldrich). После испарения растворителя (метанола), в котором растворен дериватизирующий агент, микрососуд помещали в интерфейс пиролитической установки и обдували гелием в течение 2 мин при комнатной температуре для удаления воздуха. Далее образец подвергали пиролизу (термохимолиту) при  $550^\circ\text{C}$  (процесс практически мгновенный). Образующиеся продукты (и среднелетучие компоненты образца, термодесорбированные в результате его нагрева) переносились через обогреваемый интерфейс в испаритель хроматографа. Далее сконцентрированные на входе в аналитическую колонку компоненты разделяли в условиях программирования температуры термостата и регистрировали в режиме полного ионного тока. Полноту термохимолита и переноса его продуктов и недериватизированных компонентов в ГХ-МС-систему проверяли повторным термохимолитом без добавления образца.

Зарегистрированные хроматографические пики компонентов анализируемой смеси обрабатывали с помощью программы AMDIS. Масс-спектры сравнивали с масс-спектрами образцов сравнения (метиловые эфиры жирных кислот) и масс-спектрами библиотеки NIST. Для предполагаемой идентификации зарегистрированных компонентов также применяли библиотеки масс-спектров Users' Group for Mass Spectrometry and Chromatography

(MaSC) – дискуссионного форума ученых, изучающих материалы культурного наследия, и приложение к программе AMDIS – Expert System for Characterization with AMDIS Plus Excel (RADICAL ESCAPE), специально разработанное для пополнения и использования хромато-масс-спектральных данных анализов восточных и азиатских лаков [23].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Хромато-масс-спектрометрический анализ в режиме совместно осуществляемых пиролиза, термического гидролиза и метилирования позволил выявить пять различных классов гомологических рядов соединений, характерных для восточных лаков: алкены, алканы, алкилбензолы, алкилфенолы и алкилдигидроксибензолы [12, 16, 19]. Список обнаруженных соединений с соответствующими временами удерживания представлен в табл. 1.

Характерным признаком лака уруси является присутствие в анализируемых объектах пентадецилдигидроксибензола, мацеиновой кислоты, являющейся маркером окисленного состарившегося лака уруси, алкилбензолов с длиной цепи от C3 до C7 и *n*-алканов с длиной цепи от 7 до 15 атомов, среди которых доминирует C7 [12, 16, 24, 25].

В лаковом покрытии всех изучаемых археологических образцов обнаружены: гомологический ряд дигидроксиалкилбензолов (характеристичное значение  $m/z = 151$  для их метиловых эфиров), где наиболее длинной цепью обладает пентадецилдигидроксибензол C15:0 (характеристичное значение  $m/z = 348$  для метилового эфира); гомологический ряд метиловых эфиров  $\omega$ -(2,3-диметоксифенил) алкановых кислот C<sub>6</sub>–C<sub>12</sub>, среди которых в наибольшем количестве содержится метиловый эфир мацеиновой кислоты (характеристичное значение  $m/z = 294$ ); метилированные фенолы ( $m/z = 122$ ), серия алкил- и алкенилбензолов с длиной цепи от C3 до C7 ( $m/z = 91$ ) и серии углеводородов с длиной цепи от 7 до 15 атомов ( $m/z = 55$  (алкены) и 57 (алканы)) (рис. 1).

Два обнаруженных метилированных дигидроксиалкилбензола C15:1 (характеристичное значение  $m/z$  346) и C15:0 (характеристичное значение  $m/z$  348) являются основными маркерами пиролиза лака уруси, в то время как присутствие метилового эфира мацеиновой кислоты (характеристичное значение  $m/z$  294) указывает на то, что лак уруси уже подвергся окислению в процессе длительного существования [26] (рис. 1). Масс-спектры этих соединений совпадают с таковыми для веществ, обнаруженных [19] в образце искусственно состаренного китайского лака уруси. При повторном процессе термохимического пиролиза (реагент добавляли в микрососуд из нержавеющей

стали, образец – нет) зарегистрированных ранее продуктов реакции и термодесорбированных веществ на хроматограммах не обнаружено.

Помимо указанных выше соединений, во всех проанализированных образцах идентифицировали ряд жирных кислот (характеристичное значение  $m/z$  74), что дает возможность сделать вывод о добавлении в лак в процессе изготовления липидных материалов. На соответствующей масс-хроматограмме часть пиков относится к углеводородам.

Известно, что высыхающие масла добавляют для увеличения блеска и эластичности лаковой пленки, крахмал или рисовую пасту – для увеличения ее адгезии. Добавление обоих компонентов обусловлено также экономическими причинами, это заметно сокращает расход лака [27]. Использование масла может сделать жидкий лак менее вязким, он легче полируется. Добавление масла обычно увеличивает степень блеска застывшей лаковой пленки. Масло может сделать лаковую пленку более прозрачной, но при этом пленка становится мягче и медленнее схватывается.

Маслами, используемыми в изготовлении китайских лаковых изделий, являются: перилловое, тунговое, кунжутное и льняное, а также масло сального дерева [28]. Считается, что на протяжении длительного периода времени чаще использовали перилловое и тунговое масла [29]. Перилловое масло (в связи с лаком) упоминается в медицинском тексте времен династии Хань (206 г. до н.э. – 220 г. н.э.), а тунговое масло обнаружено при исследовании некоторых лаковых изделий из погребений в Мовандуй [24] (первая половина II в. до н.э.). Информация о добавлении к сырому лаку Анакардии растительного высыхающего масла имеется в работах [30, 31], посвященных исследованию археологических лакированных китайских объектов.

Для определения типа масла используют подход [32], основанный на установлении отношения площадей пиков ряда жирных кислот – азелаиновой (А), пальмитиновой (Р) и стеариновой (S). Величины соотношений А/Р и Р/S, характерные для масел, встречающихся в восточных лаках, указаны в публикации [16].

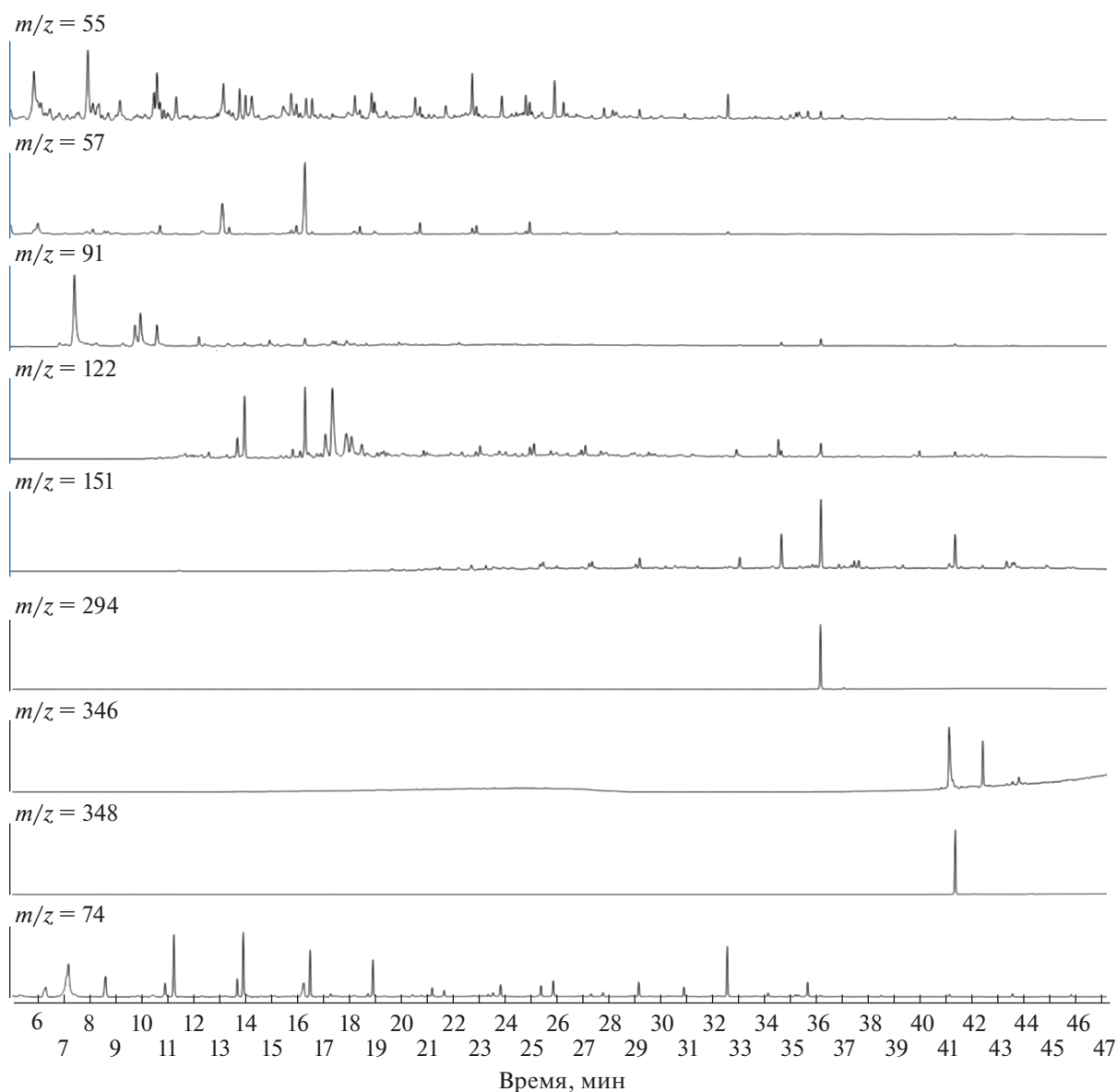
Для фрагментов декоративных изделий из могольника Оргойтон соотношение метиловых эфиров азелаиновой и пальмитиновой кислот (А/Р) оказалось в пределах от 0.8 до 1.2, а пальмитиновой и стеариновой кислот (Р/S) – в пределах от 2.2 до 3.3. Согласно [16], можно предположить, что в лак было добавлено перилловое масло. Для деталей колесницы (обода и разделителей спиц) соотношение метиловых эфиров азелаиновой и пальмитиновой кислот (А/Р) лежало в пределах от 0.4 до 0.5, а пальмитиновой и стеариновой кис-

**Таблица 1.** Соединения, обнаруженные после проведения термохимического анализа навесок лаковых слоев изучаемых объектов

| Название                                 | $t_R$ , мин | Название  | $t_R$ , мин |
|--|-------------|---|-------------|
| Гексен-2                                 | 4.52        | 2,3-Диметокситолуол                             | 17.91       |
| Гексан                                   | 4.58        | <i>n</i> -Метоксистирол                         | 17.94       |
| Метилвый эфир гидроксиуксусной кислоты   | 4.72        | 3,4-Диметилфенол                                | 18.10       |
| Бензол                                   | 5.41        | 2,5-Диметилфенол                                | 18.10       |
| Гептен-1                                 | 5.85        | 1-Додецен                                       | 18.27       |
| Гептан                                   | 5.99        | Нафталин  | 18.32       |
| Метилвый эфир бутановой кислоты          | 6.42        | Додекан   | 18.47       |
| 1-Метил-1Н-пиррол                        | 6.82        | Метилвый эфир нонановой кислоты                 | 19.03       |
| Диметил дисульфид                        | 6.86        | 3-(1-Метилэтил)фенол                            | 19.24       |
| Пиррол                                   | 7.16        | Диметилый эфир гександиовой кислоты             | 19.47       |
| Метилый эфир метоксиуксусной кислоты     | 7.25        | Тридецен-1                                      | 20.60       |
| Толуол                                   | 7.42        | Тридекан  | 20.78       |
| Метилый эфир 2-метоксипропановой кислоты | 7.91        | 2-Метил нафталин                                | 20.91       |
| Октен-1                                  | 7.94        | 1,2,3-Триметоксибензол                          | 21.11       |
| Октан                                    | 8.14        | 1-Метилнафталин                                 | 21.31       |
| <i>транс</i> -2-Октен                    | 8.30        | Диметилый эфир гептандиовой кислоты             | 21.76       |
| Метилый эфир пентановой кислоты          | 8.73        | 1,2,4- Триметоксибензол                         | 22.39       |
| Фурфурол                                 | 9.02        | Тетрадецен-1                                    | 22.80       |
| 2,4-Октадиен                             | 9.49        | Тетрадекан                                      | 22.96       |
| Этилбензол                               | 9.78        | Диметилый эфир октандиовой кислоты              | 23.93       |
| <i>о</i> -Ксилол                         | 9.99        | 1,2,3,4-Тетраметоксибензол                      | 24.01       |
| Нонен-1                                  | 10.51       | Метилый эфир 2,3-диметоксибензойной кислоты     | 24.73       |
| Стирол                                   | 10.54       | Пентадецен-1                                    | 24.87       |
| Нонан                                    | 10.74       | Пентадекан                                      | 25.02       |
| Анизол                                   | 11.23       | Метилый эфир додекановой кислоты                | 25.50       |
| Метилый эфир гексановой кислоты          | 11.37       | Диметилый эфир нонандиовой кислоты              | 25.96       |
| Триметилфосфат                           | 11.82       | Гексадецен-1                                    | 26.83       |
| Пропил бензол                            | 12.25       | Метилый эфир 3,4-диметоксибензойной кислоты     | 26.89       |
| Фенол                                    | 13.15       | Гексадекан                                      | 26.96       |
| Декан                                    | 13.42       | Флуорен   | 26.98       |
| Децен-1                                  | 13.57       | 1,2-Диметокси-3-гексенил бензол                 | 27.29       |
| Метилый эфир 6-гептеновой кислоты        | 13.81       | 1,2-Диметокси-3-гексил бензол                   | 27.43       |
| 3-Метиланизол                            | 14.01       | Диметилый эфир декандиовой кислоты              | 27.88       |
| Метилый эфир гептановой кислоты          | 14.04       | 1,2-Диметокси-3-гептенил бензол                 | 29.10       |
| Диметилый эфир бутандиовой кислоты       | 14.27       | Метилый эфир тетрадекановой кислоты             | 29.26       |
| Циклопропилбензол                        | 14.49       | Метилый эфир 3,4,5-триметокси бензойной кислоты | 30.24       |
| Инден                                    | 14.72       | Фенантрен                                       | 30.63       |
| Бутил бензол                             | 14.98       | Метилый эфир пентадекановой кислоты             | 31.00       |
| 2-Метилфенол                             | 15.00       | Метилый эфир гексадекановой кислоты             | 32.66       |
| Ацетофенон                               | 15.26       | Метил 6-(2,3-диметоксифенил)гексаноат           | 33.11       |
| 3-Метилфенол                             | 15.56       | Метил 8-(3-метоксифенил)октаноат                | 34.61       |

Таблица 1. Окончание

| Название                            | $t_R$ , мин | Название                              | $t_R$ , мин |
|-------------------------------------|-------------|---------------------------------------|-------------|
| 2-Метоксифенол                      | 15.84       | Метил 7-(2,3-диметоксифенил)гептаноат | 34.72       |
| Метилвый эфир бензойной кислоты     | 15.98       | Метилвый эфир октановой кислоты       | 35.75       |
| Ундекан                             | 16.01       | Пирен                                 | 36.06       |
| Метилвый эфир октановой кислоты     | 16.61       | Метил 8-(2,3-диметоксифенил)октаноат  | 36.24       |
| Диметилый эфир пентандиовой кислоты | 16.91       | Метил 9-(2,3-диметоксифенил)нонаноат  | 37.71       |
| 1,2-Диметоксибензол                 | 17.17       | 2-Пентадецилфенол                     | 40.84       |
| 1,4-Дигидронафталин                 | 17.41       | 1,2-Диметокси-3-пентадецил бензол     | 41.12       |
|                                     |             | 1,2-Диметокси-3-пентадецил бензол     | 41.43       |



**Рис. 1.** Выделенные масс-хроматограммы продуктов термолитического разложения лакового фрагмента из могильника Оргойтон при значениях  $m/z$ : 55 (алкены), 57 (алканы), 91 (алкил- и алкенилбензолы), 122 (метилированные фенолы), 151 (метилированные замещенные дигидробензолы), 294 (метилый эфир маценовой кислоты), 346 и 348 (метилированные пентадецилдигидробензолы C15:1 и C15:0), 74 (метилые эфиры жирных кислот).

лот (P/S) – от 0.8 до 1.1, что может соответствовать тунговому маслу [16].

\* \* \*

Применение пиролитической хромато-масс-спектрометрии в сочетании с термометилированием позволило выявить в составе лаковых покрытий фрагментов археологических образцов из могильника Оргойтон маркеры лака уруси, активно используемого на территории древнего Китая при изготовлении декоративно-художественных и утилитарных изделий. Отношение площадей хроматографических пиков азелаиновой и пальмитиновой, а также пальмитиновой и стеариновой метиловых жирных кислот дало основание предположить, что технология изготовления исследуемых лаковых покрытий предполагала добавление периллового и тунгового масел.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Scalarone D., Lazzari M., Chiantore O.* Thermally assisted hydrolysis and methylation-pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry of light-aged linseed oil // *J. Anal. Appl. Pyrol.* 2001. V. 58–59. P. 503. [https://doi.org/10.1016/S0165-2370\(00\)00127-3](https://doi.org/10.1016/S0165-2370(00)00127-3)
2. *Mazzeo R., Cam D., Chiavari G., Fabbri D., Ling H., Prati S.* Analytical study of traditional decorative materials and techniques used in Ming Dynasty wooden architecture. The case of the Drum Tower in Xi'an, P.R. of China // *J. Cult. Heritage.* 2004. V. 5. P. 273. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2004.06.001>
3. *Ling H., Maigian N., Chiavari G., Mazzeo R.* Analytical characterization of binding medium used in ancient Chinese artworks by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry // *Microchemical J.* 2007. V. 85. № 2. P. 347. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2006.08.003>
4. *Decq L., Lynen F., Schilling M., Fremout W., Cattersel V., Steyaert D., Saverwyns S.* The analysis of European lacquer: Optimization of thermochemolysis temperature of natural resins // *Appl. Phys. A.* 2016. V. 122. № 1007. P. 1. <https://doi.org/10.1007/s00339-016-0550-5>
5. *Tamburini D., Bonaducea I., Colombini M.P.* Characterization and identification of urushi using in situ pyrolysis/silylation-gas chromatography-mass spectrometry // *J. Anal. Appl. Pyrol.* V. 2015. V. 111. P. 33. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2014.12.018>
6. *Ma X.-M., Lu R., Miyakoshi T.* Application of pyrolysis gas chromatography/mass spectrometry in lacquer // *Polymers.* 2014. V. 6. P. 132. <https://doi.org/10.3390/polym6010132>
7. *Honda T., Lu R., Sakai R., Ishimura T., Miyakoshi T.* Characterization and comparison of Asian lacquer saps // *Prog. Org. Coat.* 2008. V. 61. № 1. P. 68. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2007.09.003>
8. *Lu R., Ma X. M., Kamiya Y., Honda T., Kamiya Y., Okamoto A., Miyakoshi T.* Identification of Ryukyu lacquerware by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry // *J. Anal. Appl. Pyrol.* 2007. V. 80. № 1. P. 101. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2007.01.009>
9. *Honda T., Lu R., Kitano N., Kamiya Y., Miyakoshi T.* Applied analysis and identification of ancient lacquer based on pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry // *J. Appl. Polym. Sci.* 2010. V. 118. P. 897 <https://doi.org/10.1002/app.32423>
10. *Kumanotani J.* Urushi (oriental lacquer) – A natural aesthetic durable and future-promising coating // *Prog. Org. Coat.* 1995. V. 26. P. 163. [https://doi.org/10.1016/0300-9440\(95\)00559-5](https://doi.org/10.1016/0300-9440(95)00559-5)
11. *Lee J., Jung S.-B., Terlier T., Lee K.-B., Lee Y.* Molecular identification of Asian lacquers from different trees using Py-GC/MS and ToF-SIMS // *Surf. Interface Anal.* 2018. V. 50. № 7. P. 696. <https://doi.org/10.1002/sia.6460>
12. *Le Ho A.S., Regert M., Marescot O., Duhamel C., Langlois J., Miyakoshi T., Genty C., Sablier M.* Molecular criteria for discriminating museum Asian lacquerware from different vegetal origins by pyrolysis gas chromatography/mass spectrometry // *Anal. Chim. Acta.* 2012. V. 710. P. 9. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.10.024>
13. *Niimura N., Miyakoshi T.* Characterization of natural resin films and identification of ancient coating // *J. Mass. Spectrom. Soc. Jpn.* 2003. V. 51. № 4. P. 439. <https://doi.org/10.5702/massspec.51.439>
14. *Wang N., Liu J., He L., Zhou T., Rong B., Wang L., Zhao X.* Characterization of Chinese lacquer in historical artwork by on-line methylation pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry // *Anal. Lett.* 2014. V. 47. № 15. P. 2488. <https://doi.org/10.1080/00032719.2014.913172>
15. *Niimura N., Miyakoshi T., Onodera J., Higuchi T.* Identification of ancient lacquer film using two-stage pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry // *Archaeometry.* 1999. V. 41. № 1. P. 137. <https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.1999.tb00856.x>
16. *Schilling M.R., Heginbotham A., Keulen H., Szelewski M.* Beyond the basics: A systematic approach for comprehensive analysis of organic materials in Asian lacquers // *Stud. Conserv.* 2016. V. 61. P. 3. <https://doi.org/10.1080/00393630.2016.1230978>
17. *Honda T., Lu R., Yamabuki M., Ando D., Miyazato M., Yoshida K., Miyakoshi T.* Investigation of Ryukyu lacquerwares by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry // *J. Anal. Appl. Pyrol.* 2015. V. 113. P. 41. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2014.09.026>
18. *Okamoto S., Honda T., Miyakoshia T., Han B., Sablier M.* Application of pyrolysis-comprehensive gas chromatography/mass spectrometry for identification of Asian lacquers // *Talanta.* 2018. V. 189. P. 315. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.06.079>
19. *Chiavari G., Mazzeo R.* Characterisation of paint layers in Chinese archaeological relics by pyrolysis-GC-MS // *Chromatographia.* 1999. V. 49. P. 268. <https://doi.org/10.1007/BF02467555>
20. *Полосьямак Н.В., Богданов Е.С.* Ноин-улинская коллекция. Результаты работы российско-монгольской экспедиции 2006–2012 гг. Новосибирск: ИНФОЛИО, 2016. С. 176.



21. *Талько-Гринцевич Ю.Д.* Материалы к палеоэтнологии Забайкалья. СПб: Изд-во Фонд "Азиатика", 1999. С. 123.
22. *Burmester A.* Urushi: Proceedings of the 1985 Urushi study group. Los Angeles: J. Paul Getty Trust, 1988. P. 163.
23. *Keulen H., Schilling M.* AMDIS & EXCEL: A powerful combination for evaluating THM-Py-GC/MS results from european lacquers // *Stud. Conserv.* 2019. V. 64. № 1. P. 74. <https://doi.org/10.1080/00393630.2019.1594580>
24. *Lu R., Kamiya Y., Miyakoshi T.* Applied analysis of lacquer films based on pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry // *Talanta.* 2006. V. 70. P. 370. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.02.050>
25. *Pitthard V., Wei S., Miklin-Kniefacz S., Stanek S., Griesser M., Shreiner M.* Scientific investigations of antique lacquers from a 17th-century Japanese ornamental cabinet // *Archaeometry.* 2010. V. 52. P. 1044. <https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.2009.00513.x>
26. *Pitthard V., Stanek S., Griesser M., Jordan C., Miklin-Kniefacz S., Miklin R.* The technical investigation of an eighteenth-century Chinese imperial carved lacquer screen and its role in developing an appropriate conservation treatment // *Stud. Conserv.* 2016. V. 61. P. 97. <https://doi.org/10.1080/00393630.2016.1227117>
27. *Honda T., Lu R., Yamabuki M., Ando D., Miyazato M., Yoshida K., Miyakoshi T.* Investigation of Ryukyu lacquerwares by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry // *J. Anal. Appl. Pyrol.* 2014. V. 113. P. 41. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2014.09.026>
28. *Heginbotham A., Chang J., Khanjian H., Shilling M.R.* Some observations on the composition of Chinese lacquer // *Stud. Conserv.* 2016. V. 61 P. 28. <https://doi.org/10.1080/00393630.2016.1230979>
29. *Chang J., Schilling M.R.* Reconstructing lacquer technology through Chinese classical texts // *Stud. Conserv.* 2016. V. 61. P. 38. <https://doi.org/10.1080/00393630.2016.1227115>
30. *Wei S., Song G., He Y.* The identification of binding agent used in late Shang Dynasty turquoise-inlaid bronze objects excavated in Anyang // *J. Archaeol. Sci.* 2015. V. 59. P. 211. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2015.04.021>
31. *Wei S., Pintus V., Pitthard V., Schreiner M., Song G.* Analytical characterization of lacquer objects excavated from a Chu tomb in China // *J. Archaeol. Sci.* 2011. V. 38. P. 2667. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2011.05.026>
32. *Mills J.S.* The gas chromatographic examination of paint media. Part I. Fatty acid composition and identification of dried oil films // *Stud. Conserv.* 1966. V. 11. P. 92. <https://doi.org/10.1179/sic.1966.011>

## КОНФЕРЕНЦИЯ И ШКОЛА “АНАЛИТИКА СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА”, ПОСВЯЩЕННЫЕ 100-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ И.Г. ЮДЕЛЕВИЧА

DOI: 10.31857/S0044450222050152

Конференция и школа прошли в Новосибирском национальном исследовательском государственном университете 16–20 августа 2021 г. Учредителями конференции были Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, Научный совет РАН по аналитической химии, Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН, Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова. Спонсорами выступили фирмы “Thermo Fisher Scientific”, “МС-Аналитика”, “Галахим”, “Реолгрейд сервис”, “Лабтест”, “Voi-Logic”, “Термотехно”, “OhmLiberScience”, “Элемент”, “TechnoInfo”, “Milllab”, “Аквахром”, “ВМК-Оптоэлектроника”, “CCS Services” и научно-технический журнал “Аналитика”.

Научная программа охватывала следующие направления:

Секция 1. Методы атомно-эмиссионного и атомно-абсорбционного анализа.

Секция 2. ИК и КР-спектметрия.

Секция 3. Электрохимические методы анализа.

Секция 4. Рентгеноспектральные и ядерно-физические методы.

Секция 5. Способы и системы пробоподготовки.

Секция 6. Хроматографические методы.

Секция 7. Масс-спектрометрические методы.

Секция 8. Анализ геологических и биомедицинских объектов.

Секция 9. Секция держателей грантов РФФИ.

В рамках конференции проводилась научная школа молодых ученых, и было организовано посещение аналитических лабораторий Института неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН, Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Института геологии и минералогии им. В.С. Соболева СО РАН и Института автоматизации и электротехники СО РАН (ВМК “Оптоэлектроника”). Информацион-



Фото 1. Участники конференции.



**Фото 2.** С приветствием к участникам конференции выступает академик Ю.А. Золотов.

взял на себя Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН.

На сайте конференции было зарегистрировано 199 участников, из них 125 приняли очное участие в конференции, 4 сделали сообщение онлайн. Участие в конференции приняли сотрудники РАН, вузов и предприятий из 34 городов РФ, Узбекистана и Украины. Было много участников из европейской части России (из Москвы, Санкт-Петербурга, Екатеринбурга, Самары, Саратова, Казани и др.) (фото 1). Для выступления с пленарными и ключевыми докладами и с лекциями были приглашены: академик Ю.А. Золотов (фото 2), член-корреспондент РАН А.К. Буряк, профессор М.А. Большов, д. х. н. И.В. Кубракова, д. х. н. Т.С. Папина и др. Среди участников конференции было 43 доктора и 82 кандидата наук; 48 человек представляли вузы, 51 – институты РАН, 26 – отраслевые НИИ, предприятия и разные службы. Сделано 204 доклада, из них 17 пленарных и ключевых, 62 обычных устных, 45 стендовых; 67 человек ограничились опубликованием тезисов докладов. Молодые участники сделали 13 докладов. По материалам конференции издан индексируемый в РИНЦ сборник тезисов докладов с присвоением DOI каждому докладу.

ная поддержка осуществлялась с помощью официального сайта конференции <http://conf.nsc.ru/asfe-11>. Техническую поддержку e-почты и сайта

Оргкомитет (фото 3) отметил молодых участников, сделавших лучшие доклады на школе: А. Волженина (доклад “Возможности атомно-аб-



**Фото 3.** Члены оргкомитета (слева на право): А.Р. Цыганкова (к. х. н., ученый секретарь), Н.С. Медведев (к. х. н.), О.В. Лундовская (к. х. н.), А.И. Сапрыкин (д. т. н., председатель оргкомитета), Е.В. Полякова (к. х. н.).

сорбционной спектрометрии с двухстадийной зондовой электротермической атомизацией” и П. Долгушева (“Расширение возможностей двумерной газовой хроматографии для анализа сложных высококипящих смесей”, Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, Новосибирск).

Была организована культурная программа с посещением музеев, архитектурных и природных достопримечательностей научного Академгородка.

В связи с тем, что конференция играет значительную роль в развитии науки и установлении контактов между учебными и научными учреждениями различных городов России, оргкомитет рекомендовал продолжить проведение конференций “Аналитика Сибири и Дальнего Востока” с периодичностью раз в четыре года и очередную XII конференцию провести во Владивостоке.

*А.И. Сапрыкин, А.Р. Цыганкова*