

Том 78, Номер 6

ISSN 0044-4502

Июнь 2023



ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ



www.sciencejournals.ru



СОДЕРЖАНИЕ

Том 78, номер 6, 2023

ОБЗОРЫ

Методы непрерывного хроматографического разделения веществ

Л. Н. Москвин, А. Е. Костянян, А. Л. Москвин, О. В. Родинков, Н. М. Якимова 483

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Определение лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы в растительных материалах с помощью ИК-Фурье спектроскопии

С. Г. Кострюков, Х. Б. Матъякубов, Ю. Ю. Мастерова, А. Ш. Козлов, М. К. Пряничникова, А. А. Пыненков, Н. А. Хлучина 496

Сорбенты на основе полистирол–дивинилбензола с привитым гидрофилизированным полиэтиленимином для ионной и гидрофильной хроматографии

А. В. Горбовская, Е. К. Попкова, А. С. Ужель, О. А. Шпигун, А. В. Затираха 507

Особенности определения эфиров ксантофиллов в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ

В. И. Дейнека, Т. Г. Буржинская, И. П. Блинова, Л. А. Дейнека 520

Особенности линейной корреляции газохроматографических индексов удерживания соединений различных таксономических групп

И. Г. Зенкевич 528

Экспрессное газохроматографическое определение фенола и крезолов в воде методом экстракционного вымораживания

В. Н. Бехтерев 538

Высококчувствительное определение карбамазепина, окскарбазепина, идентификация продуктов их деградации в вещественных доказательствах и в трупном материале печени человека методом ГХ-МС

А. В. Пирогов, Н. А. Гандлевский, А. А. Васильева, С. С. Барсегян, А. Е. Носырев 546

Комплексная кулонометрическая оценка антиоксидантных свойств пива

С. Ю. Матвеева, Г. К. Зиятдинова 559

В НАУЧНОМ СОВЕТЕ РАН ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

46-я Годичная сессия совета 568

Вступительное слово председателя Научного совета РАН по аналитической химии академика РАН Ю.А. Золотова на 46-й сессии совета 26 сентября 2022 г.

572

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

Новые книги издательства Elsevier 573

ХРОНИКА

Профессору Борису Борисовичу Дзантиеву — 75 лет 575

УДК 543.544

МЕТОДЫ НЕПРЕРЫВНОГО ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ ВЕЩЕСТВ

© 2023 г. Л. Н. Москвин^{а, *}, А. Е. Костанян^б, А. Л. Москвин^с, О. В. Родинков^а, Н. М. Якимова^а

^а Санкт-Петербургский государственный университет
Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, 199034 Россия

^б Институт общей и неорганической химии имени Н.С. Курнакова Российской академии наук
Ленинский просп., 31, Москва, 119991 Россия

^с Санкт-Петербургский национальный исследовательский
университет информационных технологий, механики и оптики
Кронверкский просп., 49, Санкт-Петербург, 197101 Россия

*e-mail: moskvln@yandex.ru

Поступила в редакцию 04.10.2022 г.

После доработки 02.11.2022 г.

Принята к публикации 18.11.2022 г.

Среди многочисленных вариантов методов хроматографического разделения веществ до настоящего времени недостаточное внимание уделяется их непрерывному разделению. Одним из немногочисленных исключений является опубликованный в 2001 г. обзор (Maryutina T.A., Spivakov B.Ya. Encyclopedia of Chromatography. 2001. P. 237). Предлагаемая нами статья посвящена более детальному рассмотрению предпринимавшихся попыток непрерывного хроматографического разделения веществ и оценке эффективности найденных решений. Цель настоящего обзора — привлечь больше внимания к этому перспективному направлению решения двух взаимосвязанных проблем. Во-первых, созданию систем непрерывного аналитического контроля сложных многокомпонентных объектов с изменяющимся во времени составом, а, во-вторых, к решению препаративных и технологических задач разделения близких по химическим свойствам веществ. В первом случае метод позволяет изучать динамику изменения состава сложных многокомпонентных смесей в случае изучения быстропротекающих химических процессов, а при его использовании в технологических целях открывает возможность непрерывного химико-аналитического контроля за их протеканием с позиций экономической эффективности и безопасности. Во втором случае методы непрерывного хроматографического разделения позволяют повысить эффективность и производительность получения ценных высокочистых веществ.

Ключевые слова: разделение, методы, непрерывные, хроматография, двухмерная, центрифужная.

DOI: 10.31857/S0044450223040126, **EDN:** KZQYGA

Хроматографические методы были и остаются самыми эффективными методами разделения веществ. Но при всей универсальности широко распространенных хроматографических методов разделения они имеют один общий недостаток — в общем случае разделение веществ проводится по дискретной схеме с периодическим вводом разделяемой смеси веществ и их последовательным элюированием из хроматографической колонки. Однако еще на заре развития хроматографии основоположник целого ряда ее направлений А. Мартин высказал мысль, что хроматография только тогда станет технологичным процессом, когда удастся сделать ее непрерывной. Им же была выдвинута идея непрерывной двухмерной хроматографии (НДХ) [1], попытки практической реализации которой предпринимались многими исследователя-

ми. Эти попытки оказались не очень успешными из-за технических проблем, возникающих при осуществлении непрерывного хроматографического процесса строго в соответствии с идеей Мартина. Сущность этой идеи заключается в создании хроматографов, в которых обе фазы, участвующие в хроматографическом процессе, находятся в движении относительно друг друга. В результате проявляются различия в скоростях движения фронтов или дискретных зон отдельных веществ в потоках каждой из фаз, что открывает возможность непрерывного разделения этих веществ. При этом если относительное перемещение фаз осуществляется во взаимно перпендикулярных направлениях, реализуется вариант НДХ, а если во встречных — непрерывной противоточной хроматографии (НПХ). Первый позво-

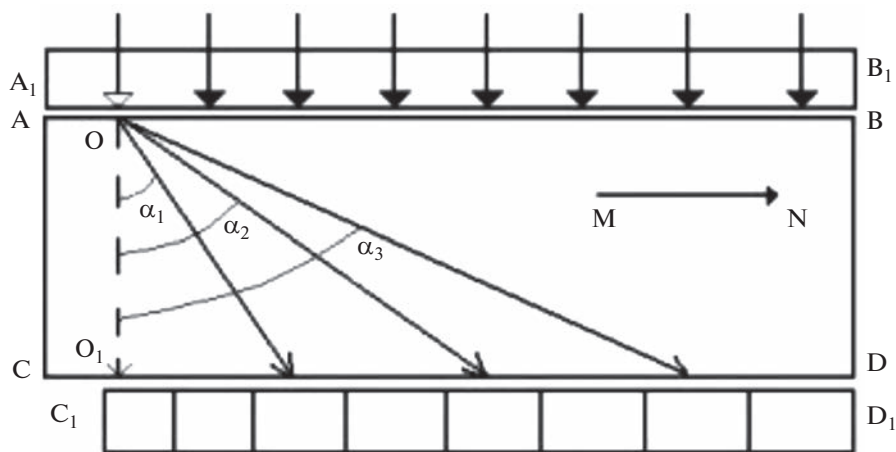


Рис. 1. Схема непрерывного двухмерного хроматографического разделения.

ляет разделять вещества на произвольное число фракций, а второй — только на две фракции. Проявление еще двух групповых признаков для хроматографических методов еще больше усложнило их общую классификацию [2]. Истории развития и применения НПХ в аналитической химии посвящен сравнительно недавний обзор [3].

Одновременно для методов непрерывного хроматографического разделения возникла необходимость уточнения терминологии. Учитывая, что в этих методах обе фазы, участвующие в хроматографическом процессе, являются подвижными, их традиционное разделение на подвижные и неподвижные теряет смысл. Представляется логичным в этом случае внести изменение в общепринятую терминологию. Фазы, выполняющие в процессе дискретного хроматографического разделения функцию неподвижных, рассматривать в НДХ и НПХ как удерживающие фазы, а подвижные фазы — как фазы-носители по аналогии с газами-носителями в традиционной газовой хроматографии [2].

Как уже отмечалось выше, помимо высказанного Мартином технологического аспекта проблема непрерывного хроматографического разделения веществ и потребность в подобных методах возникают и в химическом анализе. Фактически это единственное универсальное решение для наблюдения, как в научных, так и в прикладных целях за динамикой процессов, происходящих со случайными во времени изменениями состава анализируемой среды. Это могут быть процессы химического синтеза или разложения, а могут быть выбросы и сбросы промышленных объектов.

В настоящем обзоре рассмотрен существующий арсенал методов непрерывного хроматографического разделения и сравнительного анализа их возможностей. При этом авторы не ставили

своей целью охватить все многочисленные публикации, посвященные частным случаям применения методов непрерывного хроматографического разделения. Внимание в статье смещено к общим методологическим решениям в рассматриваемом направлении.

НЕПРЕРЫВНАЯ ДВУХМЕРНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Непрерывная двухмерная хроматография со сплошным массообменным слоем удерживающей фазы. Сущность высказанной Мартином [4] идеи наиболее универсального варианта непрерывного хроматографического разделения веществ — НДХ поясняет рис. 1. Согласно этой идее для непрерывного разделения смеси веществ на произвольное число фракций необходимо, чтобы слой сорбента или в общем случае удерживающей фазы бесконечной длины ABCD непрерывно перемещался как относительно неподвижных систем подачи в него разделяемой смеси веществ и элюентов A_1B_1 , так и относительно сборников элюата C_1D_1 . Для имитации бесконечного слоя сорбента Мартин предложил изготовить его в форме полового вращающегося цилиндра.

В 50–70 гг. 20 в. предпринимались многочисленные попытки создания непрерывных двухмерных хроматографов на принципах большинства хроматографических методов разделения, начиная с бумажной хроматографии [34] и включая различные варианты газовой [5, 6], экстракционной [7], обращенно-фазовой жидкостно-жидкостной [8] и ионообменной [9]. В каждом случае были найдены свои оригинальные решения проблем непрерывной подачи разделяемой смеси веществ и элюентов во вращающийся слой сорбента. Наиболее удачным решением явилось изготовление этого слоя из монолитного пори-

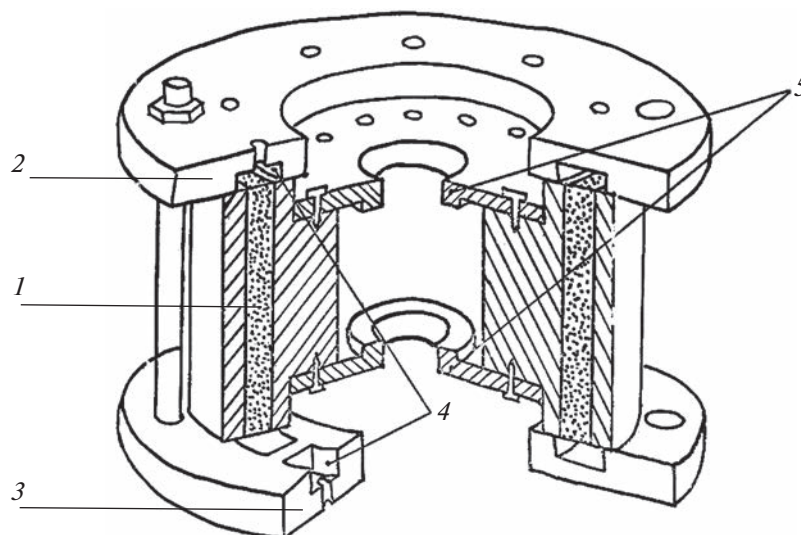


Рис. 2. Схема непрерывного двухмерного хроматографа. 1 — слой монолитного пористого носителя с удерживающей фазой; 2 — неподвижная система подачи разделяемой смеси и элюентов; 3 — система сбора элюата; 4 — отдельные секции систем подачи элюентов и сбора элюата соответственно; 5 — корпус вращающегося разделительного блока с удерживающей фазой.

стого носителя [7, 8] или из монолитного сорбента в случае непрерывного двухмерного газового хроматографа [10]. Схема хроматографа с монолитным слоем пористого носителя или сорбента представлена на рис. 2. В качестве альтернативного варианта НДХ со сплошным слоем удерживающей фазы был реализован вариант многоколоночной НДХ.

Непрерывная двухмерная хроматография в многоколоночном варианте. В этом варианте НДХ движение сплошного слоя сорбента имитировалось перемещением системы идентичных по размерам и применяемым насадкам хроматографических колонок, расположенных по образующей цилиндра [11]. Несколько позже были разработаны многочисленные варианты многоколоночных хроматографов для непрерывного контроля состава газообразных сред в атомной энергетике [12–14]. В этом варианте хроматографов коммутация потоков элюентов осуществляется с помощью многоходовых кранов, переключаемых с заданной периодичностью. Переключатели потоков выполнены из двух соосно расположенных и герметично контактирующих дисков, один из которых связан с приводом от электромотора, а другой зафиксирован неподвижно. На каждом из дисков с контактирующих друг с другом сторон выполнены расположенные симметрично относительно друг друга кольцевые каналы. При этом диски изготовлены из политетрафторэтилена — материала с минимальным коэффициентом трения, а каналы разделены на отдельные секции, каждая из которых на неподвижных дисках с их внешней стороны соединена соответственно с

входами либо с выходами идентичных по своим характеристикам хроматографических колонок. В то время как одна из секций кольцевых каналов на первом из подвижных дисков соединена с системой подачи разделяемой смеси, а остальные секции соединены с системой подачи элюента, а секции кольцевых каналов второго из контактирующих дисков соединены с каналами сбора элюата или с проточными детекторами. Кольцевые каналы на подвижных и неподвижных дисках расположены напротив друг друга. Число отдельных секций в концентрических каналах на неподвижном диске равно числу однотипных хроматографических колонок, с которыми они соединены. Разделяемая смесь подается в них через одну из секций кольцевого канала на вращающемся диске, в то время как через другие секции в нем в колонки подается газ-носитель или жидкий элюент. Число секций в кольцевых каналах вращающихся дисков определяется требованиями к числу фракций непрерывно собираемого элюата или к числу детекторов, установленных на выходе хроматографа.

В многоколоночном варианте НДХ для непрерывного контроля газообразных сред удалось найти решение проблемы запрограммированного изменения скорости и направления элюирования [12], а также раздельного термостатирования системы колонок и системы распределения газовых потоков [13]. В одном из вариантов подобных многоколоночных хроматографов для непрерывного разделения веществ в условиях имитации двухмерного хроматографического процесса решена задача непрерывного последо-

вательного группового разделения исходной смеси веществ, а затем последовательного покомпонентного разделения каждой из выделенных на первом этапе фракций [14]. Первый из хроматографов этого типа был ориентирован на контроль состава газов, растворенных в водном теплоносителе ядерного реактора. При этом для предварительного выделения растворенных газов из теплоносителей использовали сравнительно недавно открытый метод жидкостно-газовой хроматографии [15].

Уникальные возможности НДХ при ее использовании в аналитических целях проявляются в двух аспектах. При изучении химических процессов, приводящих к относительно быстрому изменению состава анализируемой среды, или при контроле за этими процессами метод позволяет получать информацию о динамике процесса практически с любой заданной периодичностью. Второй аспект аналитического применения НДХ — наблюдение за случайными, априори непредсказуемыми процессами, требующими минимального времени отклика на любое отклонение от нормы. Например, как уже отмечалось выше, один из подобных хроматографов разрабатывался для контроля растворенных газов в теплоносителе ядерного реактора, концентрация которых зависит от случайных аварийных факторов. Зафиксированное изменение газового состава позволяет принять оперативное решение для предотвращения развития аварийной ситуации.

Помимо контроля технологических процессов, типичными примерами возможного применения аналитических систем контроля на принципах НДХ является наблюдение за водными сбросами и воздушными выбросами в окружающую среду. Важным достоинством таких систем является возможность создания автоматизированных систем хроматографического контроля сложных многокомпонентных смесей, требующих применения различных типов детекторов. Но есть и одно общее ограничение в применимости метода в многоколоночном варианте. Чтобы гарантировать воспроизводимость получаемых результатов, необходимо обеспечить полную идентичность по параметрам удерживания аналитов, включаемых в хроматограф отдельных колонок. Поэтому многоколоночный двухмерный хроматографический анализ предъявляет очень строгие требования к технологии изготовления хроматографических колонок с точки зрения воспроизводимости их хроматографических характеристик.

НЕПРЕРЫВНАЯ ПРОТИВОТОЧНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Непрерывная противоточная хроматография в системе жидкость—твердое тело. Параллельно с

попытками реализовать процесс непрерывного хроматографического разделения по двухмерной схеме, предложенной Мартином, предпринимались многочисленные попытки создания различных вариантов НПХ [3, 16]. В отличие от НДХ, варианты НПХ обеспечивают возможность непрерывного разделения смеси веществ только на две фракции. Тем не менее подобные возможности представляют препаративный интерес [17], который связан с возможностью имитации при НПХ разделения смеси веществ на хроматографической колонке бесконечной длины, обеспечивающей необходимое число теоретических тарелок для разделения сколь угодно близких по своим свойствам веществ.

Для решения задач разделения в противоточном варианте жидкостно-твердофазной хроматографии предложен метод хроматографии с имитацией движущегося слоя (Simulated moving Bed Chromatography, **SMBS**), история развития которого описана в работе [18]. В нем проблему создания встречного потока сорбента в НПХ решили подобно тому, как ее решил Тарамассо [11] в многоколоночном варианте НДХ. Движение сплошного слоя сорбента имитируется системой соединенных друг с другом ячеек, каждая из которых представляет собой хроматографическую колонку, заполненную соответствующим сорбентом. Выход из каждой ячейки коммутируется со входом в следующую ячейку, и в конечном итоге все ячейки оказываются связанными в петлю.

Идеи НПХ в варианте SMBS доведены до уровня промышленных устройств и находят практическое применение в первую очередь для разделения биологически активных веществ. В частности, SMBS, обеспечивающая возможность имитации хроматографической колонки любой длины, позволяет решать самые сложные проблемы разделения веществ: разделение оптических изомеров [19] и разделения лантанидов и актинидов [20].

В качестве альтернативы SMBS предложен вариант хроматографии с истинным движущимся слоем (True moving bed chromatography, **TMBS**), как процесс жидкостно-твердофазной многоступенчатой противоточной экстракции, обеспечивающий непрерывное проведение массообменных процессов в системах жидкость—твердое тело [21, 22]. При этом обсуждаются относительные преимущества SMBS и TMBS [23, 24]. В качестве более предпочтительного решения рассматривается последнее.

В дальнейшем среди методов непрерывного хроматографического разделения наибольшее число вариантов технических решений предложено для случая непрерывной противоточной жидкостно-жидкостной хроматографии (**НПЖЖХ**).

Непрерывная противоточная хроматография в системе жидкость–жидкость. Среди найденных технических решений для осуществления НПЖЖХ особое место занимает противоточная центрифужная хроматография (ПЦХ) [25]. Ее специфика проявляется в природе сил, вызывающих относительное перемещение фаз в колонках. В этом варианте НПХ диспергирование одной фазы в потоке другой и ее движение навстречу этому потоку обеспечивается действием центробежных сил, возникающих в колонках при их вращении вокруг внешней оси центрифуги или одновременно вокруг двух осей — собственной оси и оси центрифуги. Если в такую вращающуюся колонку с разных сторон вводить фазы, участвующие в хроматографическом процессе, произойдет диспергирование одной из фаз в другой и будет осуществляться их движение навстречу друг другу. При этом находящиеся в этой системе вещества будут распределяться между этими фазами и перемещаться в колонках согласно закономерностям ПЦХ. Кроме того, в процессах ПЦХ, проводимых в режиме реального противотока, подвижная и неподвижная фазы периодически могут меняться местами и направлением движения. Теория и инструментальная специфика метода подробно рассмотрены в книгах [26, 27]; применение в аналитических целях в работе [28], а в препаративных — в работе [29]. Специальное обсуждение возможностей масштабирования процесса дано в работе [30]. Теоретические аспекты этой проблемы рассматриваются в работе [31]. Проблемы оптимизации процесса обсуждаются в работе [32]. Схемы осуществления процесса разделения могут отличаться в зависимости от условий ввода пробы. Такие процессы в зависимости от условий ввода пробы получили названия: двойная противоточная хроматография (dual countercurrent chromatography) [33]; многорежимная противоточная хроматография (multiple dual-mode counter-current chromatography) [34–36]; прерывистая противоточная экстракция (intermittent counter-current extraction) [37–40]; улавливающая многорежимная (trapping multiple dual mode) [41]. Вопросы математического моделирования различных вариантов ПЦХ обсуждаются в работе [42]. Анализ прогресса, достигнутого в развитии обсуждаемого метода, дан в работах [43, 44]. Специальные публикации посвящены технологическим аспектам применения ПЦХ [45].

Помимо ПЦХ с непрерывной подачей фазы-носителя в систему предложен вариант этого метода, в котором осуществляется циклическая подача этой фазы [46–48], а сам метод получил название циклической ПЦХ. Это решение основано на известном факте увеличения эффективности противоточных массообменных процессов в условиях циклического режима движения потоков фаз [49].

Метод нашел развитие в рециркуляционной хроматографии, в которой разделение компонентов смеси проводится в замкнутом циркуляционном контуре. При этом после ввода пробы выходящий из колонки элюент подается на ее вход [50, 51]. В рециркуляционном процессе достигается существенное увеличение эффективности процесса разделения. Метод рецикла впервые реализован в газовой хроматографии [50]. Первые упоминания о рециркуляционной жидкостно-жидкостной хроматографии можно найти в работах [52, 53]. Всплеск интереса к методу приходится на начало 21 в. с акцентом на решение препаративных задач фармакологии [54–60]. О высокой эффективности метода свидетельствует его успешное применение для разделения стереоизомеров [56, 60]. Параллельно с решением прикладных препаративных проблем большое внимание уделяется теоретическим аспектам рециркуляционной жидкостно-жидкостной хроматографии [61–68]. При этом внимание уделяется различным выше упомянутым версиям ПЦХ.

В целом, рассматривая направление развития ПЦХ, необходимо отметить, что центрифужный вариант непрерывной противоточной хроматографии изначально предполагал осуществление хроматографического процесса в системе двух жидких фаз. В этом методе, в отличие от других вариантов жидкостно-жидкостной хроматографии, не требуется носитель удерживающей фазы. Для практической реализации нашли применение два вида аппаратов: гидростатические, в которых последовательно соединенные камеры для контакта фаз, расположенные на поверхности цилиндра или пакета дисков, размещены в обычной центрифуге, и гидродинамические, в которых колонка представляет собой змеевик, намотанный в один или несколько слоев на барабан (или барабаны) планетарной центрифуги.

Особенность непрерывных методов ПЦХ проявляется в схеме загрузки разделяемой смеси в колонку: хроматографическая установка имеет две емкости для фазы-носителя — одна с “чистым” элюентом, а вторая — с раствором разделяемой смеси компонентов в элюенте. При этом насос периодически переключается с одной емкости на другую. Оба потока подаются в колонку с одинаковой объемной скоростью. Разделенные фракции компонентов периодически отбираются на выходе из колонки.

В методе непрерывной рециркуляционной хроматографии во время подачи раствора компонентов и “чистого” элюента в колонку циркуляционный контур открыт. После завершения первой загрузки раствора компонентов контур закрывается, и смесь циркулирует в системе до тех пор, пока не будет достигнута желаемая степень разделения. После этого контур открывается, чи-

стый элюент закачивается в колонку, и начинается элюирование разделенных фракций компонентов. В определенный момент времени следующая порция раствора компонентов в элюенте в течение определенного времени непрерывно подается в колонку. После окончания новой загрузки раствора компонентов свежий элюент закачивается в колонку до тех пор, пока не будет завершено элюирование компонентов предыдущей загрузки. После этого контур закрывается, и введенная в колонку смесь веществ циркулирует в системе до тех пор, пока не будет достигнута требуемая степень разделения компонентов новой загрузки. Далее указанные выше операции повторяются. Во время всех операций не прекращается движение потока фазы-носителя (фазы элюента) в колонке, поскольку переключения регулирующих клапанов на входе и выходе из колонки и насоса от резервуара раствора компонентов к резервуару чистого элюента и наоборот проводятся одновременно и автоматически.

Для практической реализации рассмотренных вариантов метода ПЦХ необходимо определить продолжительности периодов загрузки и интервалы, через которые раствор компонентов должен вводиться в колонку. Для моделирования подобных процессов достаточно иметь теоретическое описание выходных концентрационных профилей после двух последовательных загрузок. Аналитические зависимости для моделирования этих процессов и примеры моделирования различных вариантов процесса разделения приведены в работе [65].

В непрерывных процессах реально противоточной хроматографии первый полупериод каждого цикла включает две стадии: стадию загрузки раствора компонентов в элюенте и стадию подачи чистого элюента. Лимитирующими параметрами, определяющими эффективность процесса (степень разделения компонентов и производительность), являются постоянные во всех циклах продолжительности периодов подачи (движения) потоков обеих фаз и раствора компонентов разделяемой смеси. При работе в этом режиме после определенного числа циклов наступает квазистационарный режим, когда концентрационные профили разделяемых веществ в колонке и их концентрации в потоках фаз на выходе из колонки изменяются во времени, но повторяются в каждом цикле процесса. Такой режим обеспечивает высокую производительность и чистоту получаемых фракций компонентов. Теория непрерывных процессов противоточной хроматографии изложена в работах [66–68]; в электронной версии [68] размещен калькулятор для моделирования этих процессов.

Оригинальным направлением развития ПЦХ явилось рассмотрение ее как одной из версий новой группы методов разделения веществ в потоке

под действием поля (Field Flow Fractionation), которые первоначально рассматривались авторами как однофазная хроматография [69]. Это направление нашло развитие в работах [70, 71]. В этом варианте метода ПЦХ вращающиеся колонки могут использоваться для разделения как растворенных веществ, так и диспергированных частиц не только в системах жидкость–жидкость, но и в системах жидкость–твердое тело. В подтверждение возможностей этой версии метода ПЦХ разработаны методики определения многоядерных ароматических углеводородов, включающие их извлечение из осадка сточных вод, и проведение непрерывного фракционирования микроэлементов в почвах. Показано, что вращающиеся колонки могут быть успешно использованы для фракционирования микрочастиц. В этом случае нет удерживающей фазы. Центробежные силы, действующие во вращающихся колонках, обеспечивают различные скорости миграции взвешенных компонентов образца в одной жидкости-носителе.

ХРОМАТОМЕМБРАННЫЕ МЕТОДЫ

Несмотря на многообразие найденных решений для непрерывного хроматографического разделения веществ, проблема технической сложности разделительных устройств долгое время оставалась нерешенной. В качестве возможного варианта ее решения в конце прошлого века одним из авторов настоящей статьи предложен хроматомембранный массообменный процесс (ХММП), позволивший реализовать непрерывное хроматографическое разделение в системах двух флюидных фаз: жидкость–жидкость и жидкость–газ [72].

ХММП предполагает создание потоков двух обменивающихся флюидных фаз, которые перемещаются в противоположных или во взаимно перпендикулярных направлениях. Процесс осуществляется в пределах одного разделительного пространства, образованного бипористой матрицей, аналогичной по структуре используемым в хроматографии монолитным фазам (рис. 3).

Создание потоков несмешивающихся жидкостей или полярной жидкости и газа осуществляется в бипористой среде из гидрофобного материала с открытыми порами, не смачиваемого полярной жидкой фазой. Для того чтобы обеспечить возможность одновременного независимого движения потоков двух фаз через пористую матрицу, эта матрица должна иметь два типа однородных по размерам пор, причем размеры пор каждого типа должны существенно различаться. Размеры макропор должны быть такими, чтобы возникающее в них капиллярное давление по отношению к полярной жидкой фазе было пренебрежимо мало и не препятствовало ее прохождению через матрицу по порам этого типа. Размеры пор второго типа относятся к категории микро- или мезопор.

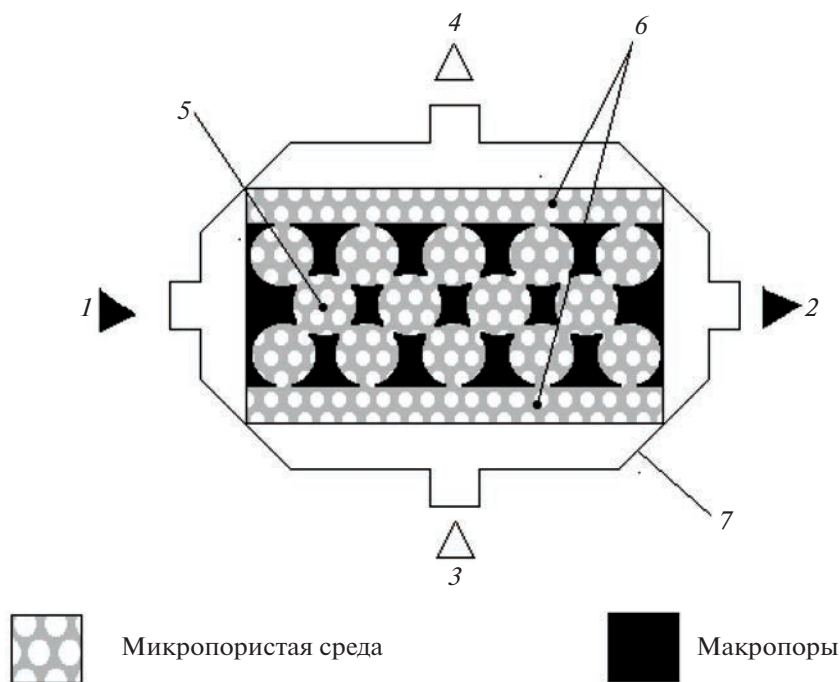


Рис. 3. Схема хроматомембранного массообменного процесса. 1, 2 — вход и выход полярной жидкой фазы; 3, 4 — вход и выход неполярной жидкой или газовой фазы; 5 — бипористая массообменная матрица; 6 — мембраны; 7 — корпус хроматомембранной ячейки.

Эти размеры отвечают условию компромисса. С одной стороны, они должны быть настолько малы, чтобы возникающее в них капиллярное давление по отношению к полярной жидкой фазе препятствовало ее проникновению в них. С другой — они должны обеспечивать достаточную проницаемость пористой матрицы для потока газов или неполярных жидкостей, смачивающих поверхность гидрофобной матрицы исключительно по порам этого типа.

Межфазный обмен в ХММП в случае системы жидкость—газ фактически копирует биохимический процесс — газообмен между вдыхаемым воздухом и кровью в легких человека и животных [73]. Как известно, вдыхаемый воздух поступает в легкие через бронхи, которые разветвляются, переходя в бронхиолы, оканчивающиеся множеством пузырьков — альвеол. На стенках альвеол, пронизанных сетью капиллярных кровеносных сосудов, осуществляется газообмен между воздухом и кровью. Массообменные процессы, происходящие в случае ХММП и в легких, отличаются только масштабом. В хроматомембранных ячейках (ХМЯ) полярная жидкость (в частном случае — кровь) перемещается по макропорам, а газовая фаза по микропорам. В легких же макропоры — альвеолы заполняют воздух, а микропоры, в качестве которых выступают микрокапилляры, заполняет кровь. Массообмен в обоих случаях осуществляется по границам пе-

ресечения пор того и другого типа, что позволяет рассматривать ХМЯ в качестве искусственных легких.

С другой стороны, в случае хроматомембранных методов, основанных на массообмене в системах жидкость—жидкость, пористая структура внутреннего объема ХМЯ аналогична структуре насадки хроматографической колонки в обращено-фазовой жидкостно-жидкостной хроматографии (ОФ ЖЖХ). Микропоры в бипористой матрице, так же как в частицах носителя неподвижной фазы в хроматографической колонке в варианте ОФ ЖЖХ, заполнены неполярной фазой, а макропоры представляют собой зазоры между частицами носителя, по которому проходит поток полярной фазы. В соответствии с этой аналогией движение зоны выделяемого вещества в хроматомембранной ячейке с потоком полярной фазы подчиняется тем же закономерностям, что и движение зон в хроматографической колонке в случае ОФ ЖЖХ. Соответственно адекватное математическое описание происходящих в ХМЯ массообменных процессов можно представить в рамках тарелочной теории хроматографии [74–76]. При этом в случае противоточной и прямоточной схем направления потоков обменивающихся фаз массообменный слой может рассматриваться по аналогии с обычной хроматографической колонкой как ряд последовательно соединенных эквивалентных теоретических тарелок. Для описания

двухмерной схемы предложена концепция двухмерных теоретических тарелок, имеющих различную протяженность по направлению движения отдающей и принимающей фаз. Специфика описания движения зон разделяемых веществ в ХМЯ проявляется в условиях непрерывного хроматомембранного процесса, когда зоны разделяемых веществ перемещаются одновременно в потоках двух фаз, как в любом процессе непрерывного хроматографического разделения веществ.

Хроматомембранные процессы могут осуществляться в двух вариантах. В первом варианте осуществляется непрерывный ввод и вывод обеих фаз из массообменного пространства в бипористой матрице, а во втором — последовательный ввод и вывод обеих фаз из бипористой матрицы в условиях, когда поток одной из фаз, являющейся удерживающей, останавливается на время пропускания через ХМЯ второй фазы. В случае первого варианта речь идет о методах непрерывного хроматомембранного разделения веществ, которые по сути аналогичны соответствующим по агрегатному состоянию фаз непрерывным хроматографическим методам. Второй вариант касается методов выделения и концентрирования целевых компонентов в дискретных режимах, ничем не отличающихся от обычных хроматографических методов, достоинства которых проявляются в том, что они легко поддаются автоматизации [77]. В последнем случае реализуется ряд дискретных методов разделения: хроматомембранная жидкостная экстракция (ХМЖЭ), хроматомембранная газовая экстракция (ХМГЭ) и обратный последней метод хроматомембранной жидкостной абсорбции (ХМЖА). Несмотря на общность принципов, каждый из названных методов имеет свою специфику и свои области применения, подробно рассмотренные в работе [78].

Среди перечисленных хроматомембранных методов распространение находят хроматомембранные методы с участием газовой фазы — ХМГЭ и ХМЖА. ХМГЭ открыла возможность реализации непрерывного парофазного анализа [79–81] и глубокой очистки воды от растворенных газообразных примесей [82], ХМЖА — непрерывного жидкостного абсорбционного выделения полярных газообразных примесей из атмосферного воздуха [83, 84]. Непрерывную ХМГЭ помимо экспериментальных удобств автоматизации процедуры газоэкстракционного выделения выгодно отличает от традиционных вариантов проточной газовой экстракции существенно меньшая инерционность [85]. Стабилизация концентраций выделяемых веществ в потоке газа-экстрагента после изменения их концентраций в анализируемой или очищаемой водной среде, подаваемой в ХМЯ, в случае ХМГЭ наступает через несколько секунд вместо нескольких минут при традиционной барботажной схеме газовой экс-

тракции. Кроме того, по сравнению с барботированием дискретный вариант ХМГЭ позволяет при прочих равных условиях извлекать аналиты в гораздо меньший объем газа-экстрагента и увеличить полноту их извлечения.

Еще одним преимуществом ХМГЭ является удобство совмещения газоэкстракционного выделения аналитов с их адсорбционным концентрированием из потока газа-экстрагента. Подобная гибридная схема получила название “purge and trap” (РАТ) [86]; в хроматомембранном варианте — “chromatomembrane purge and trap” (СМРАТ). Благодаря большей эффективности ХМГЭ по сравнению с барботажем СМРАТ позволяет добиться существенно более низких пределов обнаружения летучих органических веществ по сравнению с обычной барботажной схемой РАТ [87].

Говоря о методических решениях, основанных на ХММП в системе жидкость—газ, наряду с ХМГЭ нельзя не остановиться на методе ХМЖА. В варианте ХМЖА по сравнению с барботажом обеспечивается более высокая эффективность массопередачи, благодаря чему в хроматомембранном варианте открывается возможность пропускания потока анализируемого или очищаемого газа через абсорбирующий раствор без проскака выделяемых веществ с гораздо большими расходами. Основная область применения ХМЖА — извлечение из анализируемого или очищаемого воздуха химически активных органических и неорганических веществ, способных образовывать в водных растворах нелетучие производные. В этом случае легко выбрать абсорбирующий раствор, обеспечивающий выделение примесей с практически неограниченными коэффициентами концентрирования, а в случае очистки газов — с практически неограниченными коэффициентами их очистки от полярных реакционноспособных примесей.

Оценивая технологические возможности хроматомембранных процессов, можно отметить, что нет никаких видимых причин для ограничения масштабов применения этих процессов разделения. Об этом, в частности, свидетельствуют создание технологии хроматомембранной оксигенации крови [88] и разработка прототипа технологического процесса извлечения платиновых металлов и золота с их глубокой очисткой от сопутствующих примесей неблагородных металлов [89].

В плане перспектив расширения областей применения хроматомембранных методов важным шагом явилось решение проблемы изготовления корпусов хроматомембранных ячеек за счет использования технологии 3D печати [90]. В этом случае расширяются возможности их оптимизации, как по размерам, так и по конфигурации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

В заключение следует отметить, что, несмотря на то, что приближается 120-летний юбилей открытия хроматографии, она продолжает активно развиваться как в традиционном режиме дискретного осуществления процесса хроматографического разделения, так и в направлении поиска решений проблемы непрерывного хроматографического разделения. Обобщая результаты рассмотрения предложенных к настоящему времени непрерывных хроматографических методов, можно констатировать, что идея непрерывной двухмерной хроматографии, высказанная Мартином [2], обсуждавшаяся в начале этой статьи, не послужила прототипом наиболее эффективных решений, но она явилась импульсом для поиска альтернативных решений, таких как хроматография с имитацией движущегося слоя сорбента (SMBS) и хроматография с реально движущимся слоем (TMBS). Наконец, наиболее адекватен идее Мартина о разделении веществ в условиях взаимно перпендикулярного перемещения фаз в пространстве ХММП, открывший возможность НДХ в системах жидкость—жидкость и жидкость—газ.

Несмотря на ограничения по числу одновременно разделяемых компонентов, более результативными оказались поиски методов НПХ, которые, наряду с непрерывностью процесса разделения, обеспечили его исключительную эффективность, позволившую найти решения наиболее сложных задач разделения веществ, таких как разделение лантанидов и актинидов в неорганической химии и стереоизомеров в фармакологии.

Наконец, мы должны признаться, что при рассмотрении методов непрерывного хроматографического разделения веществ невозможно гарантировать абсолютную полноту охвата проблемы по двум причинам. Во-первых, мы исключили из рассмотрения статьи, относящиеся к начальному периоду работ в этом направлении, предлагаемые методические решения которых не нашли развития в будущем. Например, предлагался непрерывный двухмерный газовый хроматограф с ртутным затвором для герметизации границы раздела фаз. Очевидно, что такое решение бесперспективно с точки зрения безопасности обслуживания подобного хроматографа.

Вторая причина — неадекватность названия метода. Здесь иллюстрацией может быть “мембранная хроматография” [91], поскольку в нашем понимании хроматография в принципе не может быть мембранной.

Обзор посвящен 300-летию Санкт-Петербургского государственного университета.

1. *Martin A.J.P.* (1949) Summarizing paper // *Disc. Far. Soc.* 1949. V. 7. P. 332.
2. *Москвин Л.Н., Царицына Л.Г.* Непрерывное разделение многокомпонентной смеси веществ в распределительной жидкостно-жидкостной хроматографии. II. Исполнение устройства и положение максимумов элюирования // *Радиохимия*. 1970. Т. 12. С. 731.
3. *Berfthod A., Maryutina T.A., Spivakov B.Ya., Shpigun O.M., Sutherland I.A.* Counter current chromatography in analytical chemistry (IUPAC Technical Report) // *Pure Appl. Chem.* 2009. V. 81. P. 355.
4. *Maryutina T.A., Spivakov B.Ya.* Encyclopedia of Chromatography / Ed. Cazes J. N.Y.: Marcel Dekker, 2001. P. 137.
5. *Cole L.G., Hall L.G.* Chromatography. US Patent 2891630. 1959.
6. *Mosier L.C.* Continuous gas chromatography. US Patent 3078647. 1963.
7. *Heaton W.B.* Chromatographic method and apparatus. US Patent 3077103. 1963.
8. *Кожин С.А., Москвин Л.Н., Флейшер А.Ю., Енифанова И.О.* Разделение эфирных масел методом жидкостно-жидкостной обращено-фазовой распределительной хроматографии // *Журн. общ. химии*. 1973. Т. 43. С. 428.
9. *Москвин Л.Н., Мозжухин А.В., Царицына Л.Г.* Непрерывное разделение многокомпонентных смесей веществ в ионообменной хроматографии // *Журн. аналит. химии*. 1975. Т. 30. С. 39.
10. *Москвин Л.Н., Гумеров М.Ф., Горшков А.И., Ефимов А.А.* Исследование блочных сорбентов для газо-адсорбционной хроматографии // *Журн. прикл. химии*. 1974. Т. 4. № 7. С. 1973.
11. *Taramasso M.* Considerations for the design of a rotating unit for continuous production by gas chromatography and its applications // *J. Chromatogr.* 1970. V. 49. P. 27.
12. *Москвин Л.Н., Гумеров М.Ф., Горшков А.И.* Многоколоночный хроматограф непрерывного действия. Авт. свид. СССР 492803 // *Б. и.* 1973. № 43.
13. *Москвин Л.Н., Гумеров М.Ф., Горшков А.И.* Многоколоночный хроматограф для непрерывного разделения смесей. Авт. свид. СССР 641340 // *Б. и.* 1976. № 1.
14. *Москвин Л.Н., Гумеров М.Ф., Горшков А.И.* Многоколоночный хроматограф непрерывного действия. Авт. свид. СССР 817581 // *Б. и.* 1981. № 12.
15. *Moskvin L.N., Rodinkov O.V.* Analytical application of liquid-gas and liquid-gas-solid chromatography // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 1994. V. 24. P. 317. <https://doi.org/10.1080/10408349408048822>
16. *Ito Y., Conway W.D.* Development of continuous countercurrent chromatography // *Anal. Chem.* 1984. V. 56. P. 534A.
17. *Wang K., Liu Z., Huang J., Dong X., Song L., Pan Y., Liu F.* Preparative isolation and purification of theaflavins and catechins by high-speed countercurrent // *J. Chromatogr. B.* 2008. V. 867. P. 282.

18. *Imanoglu S.* Simulated moving bed chromatography (SMB) for application in bioseparation // *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 2002. V. 76. P. 212. https://doi.org/10.1007/3-540-45345-8_6
19. *Pais L.S., Loureiro J.M., Rodrigues A.E.* Chiral separation by SMB chromatography // *Sep. Purif. Technol.* 2000. V. 20. P. 67. [https://doi.org/10.1016/S1383-5866\(00\)00063-0](https://doi.org/10.1016/S1383-5866(00)00063-0)
20. *Sreedhar B., Hobbs D.T., Kawajiri Y.* Simulated moving bed chromatography design for lanthanide and actinide separations using Reillex HPQTM resin // *Sep. Purif. Technol.* 2014. V. 136. P. 5057. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.08.006>
21. *Hideyuki Nishizawa, Kayoko Tahara, Shinobu Miyamori, Yoko Motegi, Tomoko Shoji, Yoshihiro Abe.* True moving bed chromatography: Solid–liquid multi-stage counter-current extraction // *J. Chromatogr. A.* 1999. V. 849. P. 61. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)00502-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)00502-6)
22. *Idelfonso B.R., Nogueira I.B.R., Ribeiro A.M., Rodrigues A.E., Loureiro J.M.* Dynamics of true moving bed separation process: Effect of operating variables on performance indicators using orthogonalization method // *Comput. Chem. Eng.* 2016. V. 86. P. 5. <https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2015.12.009>
23. *Nogueira I.B.R., Ribeiro A.M., Rodrigues A.E., Loureiro J.M.* Dynamic response to process disturbances – A comparison between TMB/SMB models in transient regime // *Comput. Chem. Eng.* 2017. V. 99. P. 230. <https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2017.01.026>
24. *Nogueira I.B.R., Ribeiro A.M., Martins M.A.F., Rodrigues A.E., Koivisto H., Loureiro J.M.* Dynamics of a true moving bed separation process: Linear model identification and advanced process control // *J. Chromatogr. A.* 2017. V. 1504. P. 112. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.04.060>
25. *Ito Y., Bowman R.L.* Continuous countercurrent chromatography with the flow-through coil planet centrifuge // *J. Chromatogr. Sci.* 1973. V. 11. P. 284.
26. *Conway W.D.* Countercurrent Chromatography: Apparatus, Theory and Applications. N.Y.: VCH Publishers Inc., 1990. 475 p.
27. *Menet J.M., Thiebaut D.* (Eds.) Countercurrent Chromatography, Chromatographic Science Series. V. 82. N.Y.: Marcel Dekker, Inc. 1999.
28. *Zolotov Yu.A., Spivakov B.Ya., Maryutina T.A., Bashlov V.L., Pavlenko I.V.* Partition countercurrent chromatography in inorganic analysis // *Fresenius J. Anal. Chem.* 1989. V. 335. P. 938.
29. *Maryutina T.A., Spivakov B.Ya., Tschopel P.* Application of countercurrent chromatography to purification of chemical reagents // *Fresenius J. Anal. Chem.* 1996. V. 356. P. 430. <https://doi.org/10.1007/s0021663560430>
30. *Berthod A., Billardello B., Geoffroy S.* Polyphenols in countercurrent chromatography, an example of large scale separation // *Analysis.* 1999. V. 27. P. 750. <https://doi.org/10.1051/analysis:1999140>
31. *Kostanian A.E., Berthod A., Ignatova S.N., Maryutina T.A., Spivakov B.Ya., Sutherland I.A.* Countercurrent chromatographic separation: A hydrodynamic approach developed for extraction columns // *J. Chromatogr. A.* 2004. V. 1040. P. 63. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.03.055>
32. *Ito Y.* Golden rules and pitfalls in selecting optimum conditions for high-speed counter-current chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2005. V. 1065. P. 145. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.12.044>
33. *Lee Y.W.* Dual counter-current chromatography – Its applications in natural products research // *J. Chromatogr. A.* 1991. V. 538. P. 37.
34. *Delannay E., Toribio A., Boudesocque L., Nuzillard J.-M., Zeches-Hanrot M., Dardennes E., Dour G. Le, Sapi J., Renault J.-H.* Multiple dual-mode centrifugal partition chromatography, a semi-continuous development mode for routine laboratory-scale purifications // *J. Chromatogr. A.* 2006. V. 1127. P. 45. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.05.069>
35. *Rubioa N., Ignatova S., Minguillóna C., Sutherland I.* Multiple dual-mode countercurrent chromatography applied to chiral separations using a (S)-naproxen derivative as chiral selector // *J. Chromatogr. A.* 2009. V. 1216. P. 8505. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.10.006>
36. *Mekaoui N., Berthod A.* Using the liquid nature of the stationary phase. VI. Theoretical study of multi-dual mode countercurrent chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2011. V. 1218. P. 6061. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.12.104>
37. *Hewitson P., Ignatova S., Ye H., Chen L., Sutherland I.* Intermittent counter-current extraction as an alternative approach to purification of Chinese herbal medicine // *J. Chromatogr. A.* 2009. V. 1216. P. 4187. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.12.005>
38. *Aihua P., Haoyu Y., Jie S., Shichao H., Shijie Z., Shucai L., Lijuan C.* Separation of honokiol and magnolol by intermittent counter-current Extraction // *J. Chromatogr. A.* 2010. V. 1217. P. 5935. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.07.047>
39. *Ignatova S., Hewitson P., Mathews B., Sutherland I.* Evaluation of dual flow counter-current chromatography and intermittent counter-current extraction // *J. Chromatogr. A.* 2011. V. 1218. P. 6102. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.02.032>
40. *Hewitson P., Ignatova S., Sutherland I.* Intermittent counter-current extraction – Effect of the key operating parameters on selectivity and throughput // *J. Chromatogr. A.* 2011. V. 1218. P. 6072. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.03.072>
41. *Goll J., Morley R., Minceva M.* Trapping multiple dual mode centrifugal partition chromatography for the separation of intermediately-eluting components: Operating parameter selection // *J. Chromatogr. A.* 2017. V. 1469. P. 68. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.03.039>
42. *Yang Y., Aisa H.A., Ito Y.* Mathematical model of computer-programmed intermittent dual countercurrent chromatography applied to hydrostatic and hydrodynamic equilibrium systems // *J. Chromatogr. A.* 2009. V. 1216. P. 6310. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.07.015>
43. *Huang X.-Y., Ignatova S., Hewitson P., Di D.-L.* An overview of recent progress in elution mode of counter current chromatography // *Trends Anal. Chem.* 2016.

- V. 77. P. 214.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.08.006>
44. *Berthod A., Ruiz-Ángel M.J., Carda-Broch S.* Counter-current chromatography: People and applications // *J. Chromatogr. A.* 2009. V. 1216. P. 4206.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.10.071>
45. *Hopmann E., Goll J., Minceva M.* Sequential centrifugal partition chromatography: a new continuous chromatographic technology // *Chem. Eng. Technol.* 2012. V. 35. P. 72.
<https://doi.org/10.1002/ceat.201100266>
46. *Kostanyan A.E.* Controlled-cycle counter-current chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2008. V. 1211. P. 55.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.09.088>
47. *Kostanyan A.E., Voshkin A.A.* Analysis of cyclical liquid chromatography // *Theor. Found. Chem. Eng.* 2011. V. 45. P. 68.
<https://doi.org/10.1134/S0040579510061028>
48. *Kostanyan A.E., Voshkin A.A., Kodin N.V.* Controlled-cycle pulsed liquid-liquid chromatography. A modified version of Craig's counter-current distribution // *J. Chromatogr. A.* 2011. V. 1218. P. 6135.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.12.103>
49. *Gerster J.A., Scull H.M.* Performance of tray columns operated in cyclic mode // *AIChE J.* 1970. V. 16. P. 108.
<https://doi.org/10.1002/aic.690160121>
50. *Porter R.S., Johnson J.F.* Circular gas chromatography // *Nature.* 1958. V. 183. P. 391.
51. *Seidel-Morgenstern A., Guiochon G.* Theoretical study of recycling in preparative chromatography // *AIChE J.* 1993. V. 39. P. 809.
<https://doi.org/10.1002/aic.690390509>
52. *Dingenen J.* Preparative chromatographic resolution of racemates on chiral stationary phases on laboratory and production scales by closed-loop recycling chromatography // *J. Chromatogr. A.* 1994. V. 666. P. 627.
[https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)80423-0](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)80423-0)
53. *Chartor F., Bailly M., Guiochon G.* Recycling in preparative liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 1994. V. 687. P. 13.
[https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)00728-4](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)00728-4)
54. *Han Q.B., Song J.Z., Qiao C.F., Wong L., Xu H.X.* Preparative separation of gambogic acid and its C-2 epimer using recycling high-speed counter-current chromatography. // *J. Chromatogr. A.* 2006. V. 1127. P. 298.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.07.044>
55. *Xie J., Deng J., Tan F., Su J.* Separation and purification of echinacoside from *Penstemon barbatus* (Can.) Roth by recycling high-speed counter-current chromatography // *J. Chromatogr. B.* 2010. V. 878. P. 2665.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2010.07.023>
56. *Tong S., Guan Y.-X., Yan J., Zheng B., Zhao L.* Enantiomeric separation of (R,S)-naproxen by recycling high speed counter-current chromatography with hydroxypropyl- β -cyclodextrin as chiral selector // *J. Chromatogr. A.* 2011. V. 1218. P. 5434.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.06.015>
57. *Yang J., Ye H., Lai H., Li S., He S., Zhong S., Chen L., Peng A.* Separation of anthraquinone compounds from the seed of *Cassia obtusifolia* L. using recycling counter-current chromatography // *J. Sep. Sci.* 2012. V. 35. P. 256.
<https://doi.org/10.1002/jssc.201100535>
58. *Meng J., Yang Z., Liang J., Zhou H., Wu S.* Multi-channel recycling counter-current chromatography for natural product isolation: Tanshinones as examples // *J. Chromatogr. A.* 2014. V. 1327. P. 27.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.12.069>
59. *Friesen J.B., McAlpine J.B., Chen S.-N., Pauli G.F.* Countercurrent separation of natural products: An update // *J. Nat. Prod.* 2015. V. 78. P. 1765.
<https://doi.org/10.1021/np501065h>
60. *Chen Y., Yan X., Lu F., Jiang X., Friesen J.B., Pauli G.F., Chen S.-N., Li D.-P.* Preparation of flavone di-C-glycoside isomers from Jian-Gu injection (*Premna fulva* Craib.) using recycling counter-current chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2019. V. 1599. P. 180.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.03.030>
61. *Kostanyan A.E.* Modeling of closed-loop recycling liquid-liquid chromatography: Analytical solutions and model analysis // *J. Chromatogr. A.* 2015. V. 1406. P. 156.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.06.010>
62. *Kostanyan A.E.* Simple equations to simulate closed-loop recycling liquid-liquid chromatography: Ideal and non-ideal recycling models // *J. Chromatogr. A.* 2015. V. 1423. P. 71.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.10.052>
63. *Kostanyan A.E., Erastov A.* Theoretical study of closed-loop recycling liquid-liquid chromatography and experimental verification of the theory // *J. Chromatogr. A.* 2016. V. 1462. P. 55.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.07.079>
64. *Kostanyan A., Martynova M., Erastov A., Belova V.* Simultaneous concentration and separation of target compounds from multicomponent mixtures by closed-loop recycling countercurrent chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2018. V. 1560. P. 26.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.05.032>
65. *Kostanyan A., Martynova M.* Modeling of two semi-continuous methods in liquid-liquid chromatography: Comparing conventional and closed-loop recycling modes // *J. Chromatogr. A.* 2020. V. 1614. Article 460735.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460735>
66. *Kostanyan A.E.* Multiple dual mode counter-current chromatography with periodic sample injection: Steady-state and non-steady-state operation // *J. Chromatogr. A.* 2014. V. 1373. P. 81.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.11.014>
67. *Kostanyan A.E., Erastov A.A.* Steady state preparative multiple dual mode counter-current chromatography: Productivity and selectivity. Theory and experimental verification // *J. Chromatogr. A.* 2015. V. 1406. P. 118.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.05.074>
68. *Kostanyan A.E., Shishilov O.N.* An easy-to-use calculating machine to simulate steady state and non-steady-state preparative separations by multiple dual mode counter-current chromatography with semi-continuous loading of feed mixtures // *J. Chromatogr. A.* 2018. V. 1552. P. 92.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.04.010>

69. *Giddings J.C., Fisher S.R., Myers M.N.* Field-flow fractionation – One phase chromatography for macromolecules and particles // *Am. Lab.* 1978. V. 10. P. 15.
70. *Fedotov P.S., Spivakov B.Ya., Shkinev V.M.* Possibility of field-flow fractionation of macromolecules and particles in a rotating coiled tube // *Anal. Sci.* 2000. V. 16. P. 535. <http://www.jstage.jst.go.jp/browse/analsci>. <https://doi.org/10.2116/analsci.16.535>
71. *Катасонова О.Н., Федотов П.С., Карандашев В.К., Спиваков Б.Я.* Применение вращающихся спиральных колонок для фракционирования частиц почвы и последовательного экстрагирования форм тяжелых металлов из илистой пылевой и песчаной фракции // *Журн. аналит. химии.* 2005. V. 60. № 7. С. 765. (*Katasonova O.N., Fedotov P.S., Karandashev V.K., Spivakov B.Ya.* Application of rotating coiled columns to the fractionation of soil particles and to the sequential extraction of heavy-metal species from silty, dusty, and sandy fractions // *J. Anal. Chem.* 2005. V. 60. № 7. P. 684.) <https://doi.org/10.1007/s10809-005-0159-x>
72. *Moskvin L.N.* Chromatomembrane method for the continuous separation of substances // *J. Chromatogr. A.* 1994. V. 669. P. 81. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)80339-0](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)80339-0)
73. *Москвин Л.Н.* Хроматомембранные легкие // *Природа.* 1997. Т. 10. С. 39.
74. *Родинков О.В., Москвин Л.Н.* Непрерывная двухмерная хроматомембранная газовая экстракция. Тарелочная модель и практические следствия // *Журн. аналит. химии.* 2000. Т. 55. № 9. С. 950. (*Rodinkov O.V., Moskvin L.N.* Continuous two-dimensional chromatomembrane gas extraction: A plate model and its practical consequences // *J. Anal. Chem.* 2000. V. 55. № 9. P. 854.) <https://doi.org/10.1007/BF02757849>
75. *Родинков О.В., Москвин Л.Н.* Закономерности противоточной хроматомембранной газовой экстракции // *Журн. аналит. химии.* 2003. Т. 58 № 6. С. 611. (*Rodinkov O.V., Moskvin L.N.* Regularities in counter-flow chromatomembrane gas extraction // *J. Anal. Chem.* 2003. V. 58. № 6. P. 548. <https://proxy.library.spbu.ru:2060/10.1023/A:1024112118542>)
76. *Родинков О.В., Бугайченко А.С., Москвин Л.Н.* Сравнение аналитических возможностей различных схем хроматомембранной газовой экстракции // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 76. № 9. С. 797. (*Rodinkov O.V., Bugaichenko A.S., Moskvin L.N.* Comparison of the analytical capabilities of different chromatomembrane gas extraction techniques // *J. Anal. Chem.* 2021. V. 76. № 9. P. 1051.) <https://doi.org/10.1134/S1061934821090094>
77. *Moskvin L.N., Moskvin A.L.* Chromatomembrane methods – Novel automatization possibilities of substances separation processes // *Laboratory Robotics and Automation.* 1998. V. 10. P. 3. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2728\(1998\)10:1<3::AID-LRA2>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2728(1998)10:1<3::AID-LRA2>3.0.CO;2-8)
78. *Москвин Л.Н., Родинков О.В.* Хроматомембранные методы. Физико-химические принципы, аналитические и технологические возможности // *Изв. АН. Сер. хим.* 2012. Т. 61. № 4. С. 719. (*Moskvin L.N., Rodinkov O.V.* Chromatomembrane methods: Physico-chemical principles, analytical and technological possibilities // *Russ. Chem. Bull.* 2012. V. 61. P. 723.) <https://doi.org/10.1007/s11172-012-0105-7>
79. *Moskvin L.N., Rodinkov O.V.* Continuous chromatomembrane headspace analysis // *J. Chromatogr. A.* 1996. V. 725. P. 351. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(95\)00991-4](https://doi.org/10.1016/0021-9673(95)00991-4)
80. *Rodinkov O.V., Moskvin L.N., Viktorova M.I., Dyakin A.A., Yakimova N.M.* Chromatomembrane headspace analysis of aqueous solutions at elevated temperatures // *Chromatographia.* 2015. V. 78. P. 1211. <https://doi.org/10.1007/s10337-015-2926-7>
81. *Москвин Л.Н., Родинков О.В.* От жидкостно-газовой хроматографии к хроматомембранному массообменному процессу // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 74. № 10. С. 729. (*Moskvin L.N., Rodinkov O.V.* From liquid–gas chromatography to a chromatomembrane mass-exchange process // *J. Anal. Chem.* 2019. V. 74. № 10. P. 955.) <https://doi.org/10.1134/S1061934819100083>
82. *Москвин Л.Н., Родинков О.В., Григорьев Г.Л., Зыкин И.А.* Хроматомембранная газоэкстракционная очистка воды от растворенного кислорода // *Журн. прикл. химии.* 2002. Т. 75. № 8. С. 1227. (*Moskvin L.N., Rodinkov O.V., Grigor'ev G.L., Zikin I.A.* Chromatomembrane gas extraction water purification from dissolved oxygen // *Russ. J. Appl. Chem.* 2002. V. 75. № 8. P. 1253. <https://proxy.library.spbu.ru:2060/10.1023/A:1020984105252>).
83. *Bloch C., Simon J., Modkvin L.N., Rodinkov O.V.* The properties of chromatomembrane cells in flow systems coupled to gas chromatography – Analysis of volatile organic compounds // *Talanta.* 2000. V. 52. P. 123. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(00\)00315-5](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(00)00315-5)
84. *Sritharathikhun P., Oshima M., Motomizu S.* On-line collection/concentration of trace amounts of formaldehyde in air with chromatomembrane cell and its sensitive determination by flow injection technique coupled with spectrophotometric and fluorometric detection // *Talanta.* 2005. V. 67. P. 1014. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.04.037>
85. *Родинков О.В., Москвин Л.Н., Майорова Н.А.* Быстродействие различных схем непрерывной хроматомембранной газовой экстракции // *Журн. аналит. химии.* 2005. Т. 60. № 8. С. 727. (*Rodinkov O.V., Moskvin L.N., Maiorova N.A.* Operation rates of different schemes of continuous chromatomembrane gas extraction // *J. Anal. Chem.* 2005. V. 60. № 8. P. 820.) <https://doi.org/10.1007/s10809-005-0171-1>
86. *Franchina F.A., Zanella D., Lazzari E., Stefanuto P.-H., Focant J.-F.* Investigating aroma diversity combining purge-and-trap, comprehensive two-dimensional gas chromatography, and mass spectrometry // *J. Sep. Sci.* 2020. V. 43. P. 1790. <https://doi.org/10.1002/jssc.201900902>
87. *Родинков О.В., Вагнер Е.А., Бугайченко А.С., Москвин Л.Н.* Сравнение эффективности углеродных сорбентов для концентрирования легколетучих органических веществ из влажных газовых // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 74. № 9. С. 673. (*Rodinkov O.V., Vagner E.A., Bugaichenko A.S., Moskvin L.N.* Comparison of the efficiencies of carbon sorbents for the preconcentration of highly volatile organic sub-

- stances from wet gas atmospheres for the subsequent gas-chromatographic determination. // J. Anal. Chem. 2019. V. 74. № 9. P. 877.)
<https://doi.org/10.1134/S1061934819090089>
88. Москвин Л.Н., Григорьев Г.Л., Родинков О.В., Седов В.М., Сенчик К.Ю. Хроматомембранная оксигенация крови, выбор оптимальных условий для массообмена в систем кровь–воздух // Клинический и лабораторный консилиум. 2005. № 8. С. 41.
89. *Moskvin L.N., Rodinkov O.V.* Chromatography membrane techniques as the prospect of creating technological processes for the continuous extraction separation of substances // Theor. Found. Chem. Eng. 2016. V. 50. P. 655.
<https://doi.org/10.1134/S0040579516040230>
90. *Moskvin L.N., Rodinkov O.V., Moskvin A.L., Spivakovskii V., Vlasov A.Y., Bugaichenko A.S., Samokhin A.S., Nesterenko P.N.* Chromatomembrane preconcentration of phenols using a new 3D printed microflow cell followed by reversed-phase HPLC determination // J. Sep. Sci. 2021. V. 44. P. 2449.
<https://doi.org/10.1002/jssc.202100089>
91. *Ghosh R.* Ultra high-speed, ultra-resolution preparative separation of protein biopharmaceuticals using membrane chromatography // J. Sep. Sci. 2022. V. 45. P. 2024.

УДК 547.992.3:543.429.23

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛИГНИНА, ЦЕЛЛЮЛОЗЫ И ГЕМИЦЕЛЛЮЛОЗЫ В РАСТИТЕЛЬНЫХ МАТЕРИАЛАХ С ПОМОЩЬЮ ИК-ФУРЬЕ СПЕКТРОСКОПИИ

© 2023 г. С. Г. Кострюков^a, *, Х. Б. Матякубов^a, Ю. Ю. Мастерова^a, А. Ш. Козлов^a,
М. К. Пряничникова^a, А. А. Пыненков^a, Н. А. Хлучина^a

^a Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва
ул. Большевикская, 68, Саранск, 430005 Россия

*e-mail: kostyukov_sg@mail.ru

Поступила в редакцию 09.03.2022 г.

После доработки 06.11.2022 г.

Принята к публикации 10.11.2022 г.

Разработана и апробирована методика определения содержания лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы в растительных материалах с помощью ИК-Фурье спектроскопии в средней спектральной области. Методика основана на использовании градуировочных функций, отражающих зависимость интенсивности аналитических полос поглощения от содержания лигнина (1512 см^{-1}) и целлюлозы (1450 см^{-1}) в модельных образцах; для гемицеллюлозы использовали косвенные корреляции. Модельные образцы представляли собой тройные смеси, состоящие из лигнина, бактериальной целлюлозы и гемицеллюлозы в различных соотношениях. Предложенная методика апробирована на широком круге образцов растительной биомассы и характеризуется прецизионностью (s_r не более 0.04). Методом введено—найдено продемонстрирована правильность методики определения основных компонентов растительной биомассы (лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы).

Ключевые слова: ИК-Фурье спектроскопия, полоса поглощения, растительная биомасса, лигнин, целлюлоза, гемицеллюлоза.

DOI: 10.31857/S0044450223040102, **EDN:** KZNMNG

Отходы растительного происхождения обладают уникальным потенциалом для производства возобновляемой энергии и ценных химических веществ и могут способствовать в ближайшей перспективе решению проблем, связанных с использованием традиционного ископаемого топлива. Разработка и внедрение технологий химической и биотехнологической переработки растительной биомассы в биотопливо и химические вещества в настоящее время является актуальной задачей. В этом контексте знание исходного состава растительной биомассы имеет решающее значение для прогнозирования эффективности любого процесса переработки. Большинство “мокрых” аналитических методов определения целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина основаны на их разделении с последующим выделением [1, 2]. Однако данные методы деструктивны и трудоемки, требуют значительного количества материала, генерируют большой объем химических отходов и не всегда дают достоверные результаты [1–4]. Желательно создать простые и экспрессные спектроскопические способы определения содержания этих компонентов, среди ко-

торых ИК-спектроскопия является наиболее доступным и привлекательным методом [5].

Следует отметить, что применение ИК-спектроскопии, например, для анализа древесины началось еще во второй половине XX в. под руководством Карклина [6, 7] и продолжается в настоящее время. В нашей стране подобные исследования выполняются группой Деркачевой; так, с помощью ИК-спектроскопии разработан способ определения содержания лигнина в бумаге [8], в сульфатной целлюлозе [9, 10], а также выполнена оценка конденсации и осаждения лигнина, происходящих при варке сульфатной целлюлозы [11, 12]. Поскольку ИК-Фурье спектроскопия отличается экспрессностью, простотой пробоподготовки и не требует большого количества исследуемого образца, ее с успехом применяют в анализе археологической древесины [13–15]. По ИК-спектрам можно не только различить породы древесины [16], но и определить место произрастания [17].

За рубежом интерес к данной тематике также высок; например, в обзоре [18] обобщены достижения в использовании ИК-спектроскопии для исследования растительной биомассы. Сравне-

ние трех методов ИК-Фурье спектроскопии (нарушенное полное внутреннее отражение (НПВО), диффузное отражение и пропускание) дано в работе [19]. В последние годы все больший интерес вызывает использование ближней инфракрасной спектроскопии (NIRS) для качественного и количественного анализа растительных материалов [20], однако данный метод требует более сложной математической обработки в связи с перекрыванием и низкой интенсивностью аналитических полос. Описано применение ИК-Фурье спектроскопии для выявления химических различий между верхушечной и базальной древесины двух видов амазонских деревьев, пользующихся спросом в лесной промышленности [21]. ИК-спектры получены для 150 образцов каждого вида дерева возрастом 1.8 г. Результаты показали значительные различия между верхушечным и базальным стеблем с точки зрения содержания целлюлозы, гемицеллюлозы, холоцеллюлозы и лигнина. ИК-Фурье спектроскопию удобно использовать для определения качества сырья, применяемого в производстве древесных гранул [22], а также для определения химического состава и прогнозирования термохимических свойств отходов лесозаготовок [23]. С помощью инфракрасной спектроскопии и хемометрических методов (анализ основных компонентов и иерархический кластерный анализ) исследованы комбинированные эффекты химической (с трицином и бицином) и термической обработки древесины [24]. ИК-Фурье спектроскопия может служить эффективным инструментом для выявления различий химического состава между ювенильной и зрелой древесиной сосны: модели частичной регрессии методом наименьших квадратов, построенные по стандартизированным ИК-спектрам, обеспечивают высокую точность прогнозирования содержания лигнина, целлюлозы и экстрактивных веществ [25]. В работе [26] в ИК-спектрах некоторых текстильных растений определены маркерные области, которые можно использовать при сортировке сырья. С помощью метода НПВО изучены процессы старения древесноволокнистых плит при термическом воздействии и облучении [27], в условиях щелочной экстракции древесины [28], при обработке озоном [29] и при культивировании гриба *Ganoderma lucidum* в течение от одного до пяти лет [30].

Таким образом, простота пробоподготовки, доступность аппаратуры и разнообразие методов делает ИК-Фурье спектроскопию незаменимым инструментом для исследования лигноцеллюлозных материалов, с помощью которого можно быстро получить качественные и количественные данные.

Цель настоящей работы состояла в разработке и апробации методики определения лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы с помощью ИК-Фурье спектроскопии с использованием метода

прессования таблеток с КВг. В качестве объектов исследования использовали различные образцы древесины и сельскохозяйственные отходы — в общей сложности 24 образца. Содержание лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы, полученное методом ИК-спектроскопии, сравнивали с литературными данными [31, 32].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Стандартные соединения. Для получения градиентной зависимости использовали бактериальную целлюлозу, крафт-лигнин и гемицеллюлозу. Бактериальную целлюлозу получали в статической культуральной среде с помощью *Komagataeibacter sucrofermentans* H110 [33], гемицеллюлозу — из березовой древесной муки согласно методике, приведенной в работе [34], крафт-лигнин и роданид свинца приобретали у компании Sigma-Aldrich (Германия). Все соединения, используемые в качестве стандартов, предварительно высушивали при 105°C в течение 12 ч и хранили в эксикаторе над безводным CaCl_2 .

Растительные материалы. В качестве объектов исследования использовали несколько образцов древесины и различные сельскохозяйственные отходы, всего 24 образца. Образцы древесины собирали с живых деревьев, произрастающих в лесопарковой зоне г. Саранска. Предпочтение отдавали деревьям возраста 40–60 лет. Для взятия образцов древесины использовали возрастные буры Haglof ($d = 5.15$ мм, $l = 100$ мм), при помощи которых высверливали радиальные керны. Образцы древесины высверливали перпендикулярно продольной оси ствола на высоте примерно 1 м от поверхности земли. Сельскохозяйственные отходы, в частности, ячменная солома (сорт “Казанский 6/4”), пшеничная солома (сорт “Саратовская 36”), овсяная солома (сорт “Победа”), стебли и початки кукурузы (сорт “Стерлинг”), стебли и скорлупа семян подсолнечника (сорт “Енисей”), были предоставлены местными сельскохозяйственными производителями. Скорлупу грецкого ореха (сорт “Чандлер”), арахиса (сорт “Вирджиния”), фисташки (сорт “Узун”), фундука (сорт “Кубань”), миндаля (сорт “Монтерей”), кедрового ореха получали с орехов, приобретенных на рынке. Кокосовый орех (Индонезия) приобретали в супермаркете. Солому камыша собирали в пойме р. Инсар поздней осенью. Все образцы вначале высушивали при 60°C в течение 12 ч в термовентилируемой печи и затем измельчали до фракции 50 мкм на ультрацентрифужной мельнице Retsch ZM 200. Перед всеми исследованиями образцы высушивали до постоянной массы в сушильном шкафу при 105°C в течение 12 ч.

ИК-Фурье спектроскопия. Для анализа растительных материалов вместо метода НПВО выбрали метод просвечивания с использованием таб-

летки с КВг, поскольку в этом случае удобно готовить искусственные смеси из веществ, взятых в качестве стандартов, для получения градуировочной зависимости. Кроме того, метод НПВО основан на принципе поверхностного отражения и больше подходит для анализа образцов, в которых все компоненты распределены в матрице однородно. Однако растительная биомасса имеет сложную трехмерную структуру, и поэтому метод таблеток с КВг дает более репрезентативную информацию. В частности, ранее отмечено [19, 35], что ИК-Фурье спектроскопия пропускания при соблюдении условия размера частиц менее 100 мкм дает более качественные спектры, чем метод НПВО или диффузного отражения. При выполнении условия одинаковой массы одного и того же образца и КВг можно получить таблетки одинаковой толщины и воспроизводимые ИК-спектры. Спектры тройных смесей и растительных материалов регистрировали при комнатной температуре, поддерживая одинаковые концентрации анализируемого материала (0.5 мас. %) и толщину каждой таблетки (0.55 мм), чтобы результаты анализа подчинялись закону Бугера–Ламберта–Бера и оставались в линейном диапазоне градуировочной функции. Для изготовления таблеток использовали КВг, содержащий 0.1 мас. % $\text{Pb}(\text{SCN})_2$ в качестве внутреннего стандарта. Твердую смесь, состоящую из КВг, $\text{Pb}(\text{SCN})_2$ и анализируемого образца или веществ-стандартов, измельчали в размольном контейнере из карбида вольфрама полуавтоматической вибрационной мельницы Herzog HP-M 100 в течение 30 с. Затем из 200 мг полученных порошков прессовали таблетки, для которых регистрировали ИК-спектры. Прессование осуществляли на прессе Lab Tools при давлении до 20 МПа.

ИК-Фурье спектры регистрировались с помощью ИК-Фурье-спектрометра Инфра ЛЮМ ФТ-08 в диапазоне $400\text{--}4000\text{ см}^{-1}$ с разрешением 4 см^{-1} , с использованием аподизации функцией Бесселя с временем накопления 60 с при температуре окружающей среды от 18 до 25°C , нормальном атмосферном давлении и влажности воздуха не более 80%. Для вычисления площадей пиков использовали программное обеспечение СпектрАЛЮМ, версия 2.0.1.295.

Определение зольности в стандартных соединениях и образцах растительной биомассы проводили по аналогии с ГОСТ Р 56881-2016 [36] с той разницей, что для каждого образца выполняли четыре повтора.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ИК-Фурье спектры целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина, которые использовали в качестве соединений-стандартов, представлены на рис. 1.

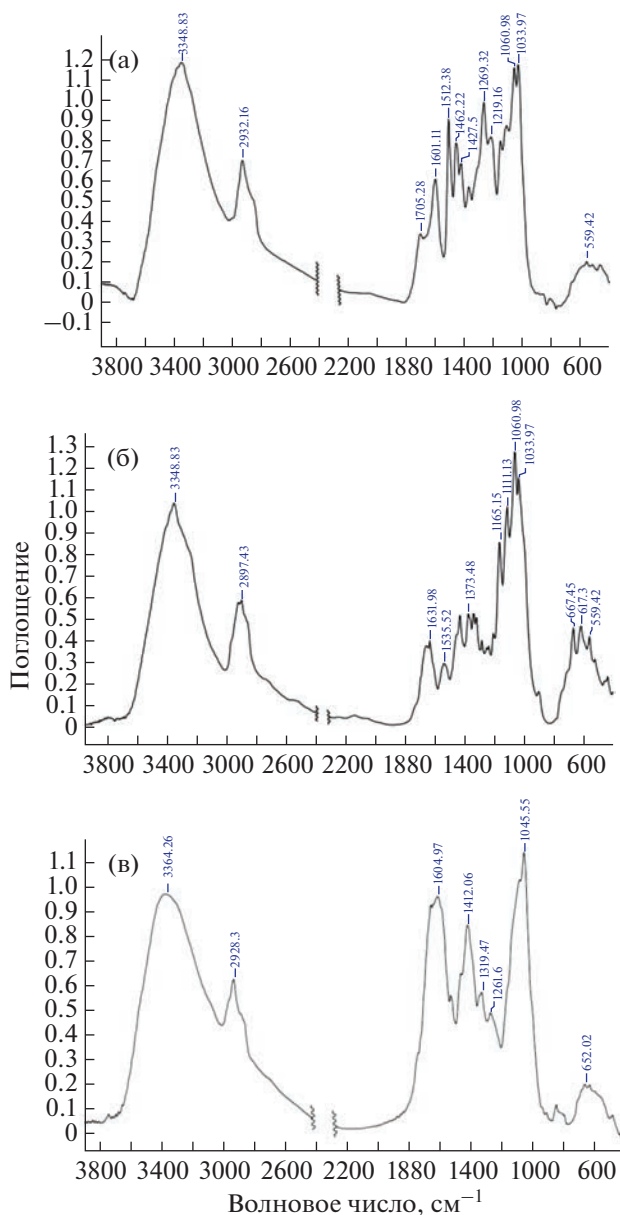


Рис. 1. ИК-спектры лигнина (а), бактериальной целлюлозы (б), гемицеллюлозы (в) в таблетках с КВг (200 мг с 0.5 мас. % вещества).

Подробное описание основных полос поглощения целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина приведено в табл. 1 [37].

Анализируя спектры каждого отдельного компонента при одинаковых концентрациях КВг и толщине таблеток, можно наблюдать заметные различия в интенсивности и положении некоторых полос поглощения. Так, полосу поглощения при 1512 см^{-1} (площадь, интегрированная между 1490 и 1530 см^{-1}), которая в основном обусловлена скелетными колебаниями ароматического кольца, выбрали для определения лигнина. Выбор

Таблица 1. Полосы поглощения лигнина, бактериальной целлюлозы и гемицеллюлозы [37]

Полосы поглощения, см ⁻¹	Лигнин	Бактериальная целлюлоза		Гемицеллюлоза
3700–3100	Валентные колебания О–Н			
3000–2750	Симметричные и асимметричные валентные колебания С–Н в группах СН, СН ₂ и СН ₃			
1770–1700	Валентные колебания С=О в карбонильных и карбоксильных группах	Отсутствуют полосы поглощения		Валентные колебания С=О в ацетильных фрагментах
1675–1655	Валентные колебания С=О в <i>n</i> -замещенных ароматических кетонах	Отсутствуют полосы поглощения		
1650–1615	Деформационные колебания кристаллизационной воды			
1605–1490	Валентные скелетные колебания С–С ароматического кольца; валентные колебания С=О	Отсутствуют полосы поглощения		Асимметричные валентные колебания карбоксилат-аниона
1470–1460	Асимметричные деформационные колебания С–Н в группах СН ₂ и СН ₃	Отсутствуют полосы поглощения		Ножничные симметричные деформационные колебания С–Н в группах СН ₂
1450–1400	Валентные скелетные колебания С–С ароматического кольца, комбинированные с асимметричными плоскостными деформационными колебаниями С–Н в группах ОСН ₃	Деформационные плоскостные колебания О–Н; ножничные колебания С–Н в группах СН ₂	Симметричные валентные колебания карбоксилат-аниона; симметричные деформационные колебания С–Н в группах СН ₂	
1380–1370	Отсутствуют полосы поглощения	Деформационные колебания С–Н и О–Н		Деформационные колебания С–Н в группах СН ₃ ацильных фрагментов
1370–1350	Симметричные деформационные колебания С–Н в группах СН ₃ ; плоскостные деформационные колебания О–Н в фенолах	Отсутствуют полосы поглощения		Деформационные плоскостные колебания О–Н
1335–1200	Скелетные колебания сирингильного и конденсированного гваяцильного кольца; валентные асимметричные колебания С _{Ar} –О–С; валентные колебания С–О в фенолах	Деформационные колебания С–Н; деформационные веерные колебания С–Н в группах СН ₂ ; деформационные плоскостные колебания О–Н		
		Симметричные валентные колебания гликозидной связи		Деформационные колебания С–О–С между ацильными группами и углеводными фрагментами
1170–1150	Плоскостные деформационные колебания С–Н ароматического кольца; валентные колебания С–О	Асимметричные валентные колебания моста С–О–С между глюкопиранозными единицами		Асимметричные валентные колебания моста С–О–С между ксилопиранозными единицами

Таблица 1. Окончание

Полосы поглощения, см^{-1}	Лигнин	Бактериальная целлюлоза	Гемицеллюлоза
1145–1000	Плоскостные деформационные колебания С–Н сиригильного и гвая-цильного колец	Валентные колебания глюкопиранозного кольца	Валентные колебания ксилопиранозного кольца
	Валентные колебания С–О в спиртовых группах; симметричные и асимметричные валентные колебания С–О–С		
925–750	Внеплоскостные деформационные колебания С–Н ароматического кольца	Различные колебания глюкопиранозного кольца	Различные колебания ксилопиранозного кольца
700–400	Отсутствуют полосы поглощения	Внеплоскостные деформационные колебания гидроксильных групп	

этой полосы поглощения представляется целесообразным, поскольку целлюлоза и гемицеллюлоза в этом диапазоне не имеют полос поглощения. Для определения целлюлозы использовали полосу поглощения при 1450 см^{-1} (площадь, интегрированная между 1405 и 1480 см^{-1}), которая в основном приписывается ножничным колебаниям метиленовой группы и деформационным плоскостным колебаниям ОН-группы. Этот выбор сделан по аналогии с данными исследования [38]. Для нормализации интегрированных площадей аналитических полос, выбранных для количественного анализа, использовали полосу поглощения 2072 см^{-1} (площадь, интегрированная между 2050 и 2084 см^{-1}), принадлежащую внутреннему стандарту $\text{Pb}(\text{SCN})_2$.

Что касается гемицеллюлозы, то структурно она отличается от целлюлозы присутствием ацетильных и карбоксильных групп. Однако на полосы поглощения этих групп накладываются полосы деформационных колебаний кристаллизационной воды [37], которая не удаляется при сушке образца. Количество связанной воды определяли методом термогравиметрии на термомикровесках Netzsch TG 209 F1 Libra как потерю массы образца (%) при нагреве до 150°C (условия анализа – нагрев от 100 до 200°C со скоростью нагрева $10^\circ\text{C}/\text{мин}$). Для лигнина количество связанной воды составило 3.3% , для бактериальной целлюлозы – 1.1% и для гемицеллюлозы – 7.1% . Количество кристаллизационной воды в образцах растительных материалов не превышало 5% . Таким образом, суммарное количество воды в тройных смесях примерно равнялось количеству воды в растительных материалах, поэтому поправку на присутствие воды не делали. Поскольку в спектре гемицеллюлозы имеется широкая полоса поглощения в области 1750 – 1510 см^{-1} , не представляется возможным использовать полосы поглощения

групп $\text{C}=\text{O}$ или COOH в качестве аналитических. В остальном спектры целлюлозы и гемицеллюлозы вследствие структурного сходства отличаются мало, поэтому для определения гемицеллюлозы использовали косвенные корреляции между различными количествами каждого компонента в тройных смесях. В частности, рассматривали отношения лигнин/(целлюлоза + гемицеллюлоза) к количеству лигнина и целлюлоза/(гемицеллюлоза + лигнин) к количеству целлюлозы.

Для разработки модели предварительно определили зольность каждого стандартного вещества (целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина), чтобы учесть только реальное количество полимера. При этом выявили достаточно высокое содержание золы для лигнина ($12.5 \text{ мас. \%}$) и гемицеллюлозы ($16.8 \text{ мас. \%}$) и низкое содержание золы для бактериальной целлюлозы ($0.4 \text{ мас. \%}$).

В соответствии с процедурами, описанными в “Экспериментальной части”, приготовили несколько скорректированных по зольности тройных смесей стандартных веществ (образцы 1–10, табл. 2). Для уменьшения погрешностей ИК-спектры для каждого образца записывали пять раз, а затем усредняли. По отношению к интересующим нас полосам поглощения оценивали интегральные площади и строили график зависимости этих значений от содержания лигнина и целлюлозы. Площадь пиков вычисляли с использованием коррекции базовой линии. Состав стандартных тройных смесей, интегральные интенсивности и их нормализованные значения приведены в табл. 2.

Градуировочные функции для определения целлюлозы и лигнина в тройных смесях целлюлоза–гемицеллюлоза–лигнин представляют собой линейные зависимости между содержанием лигнина или целлюлозы и величинами S_1 или S_2 (уравнения (1) и (2)), коэффициент корреляции

Таблица 2. Составы тройных смесей стандартных веществ с поправкой на зольность, площади аналитических полос поглощения и их нормализованные значения ($n = 5$, $P = 0.95$)

Образец	Лигнин, %	Целлюлоза, %	Геми- целлюлоза, %	Лигнин, $S_{1490-1530} \pm \Delta$	Целлюлоза, $S_{1405-1480} \pm \Delta$	s_r	Рb(SCN) ₂ , $S_{2050-2080} \pm \Delta$	s_r	Лигнин, $S_{149-1530}/S_{2050-2080}$	s_r	Целлюлоза, $S_2 \pm \Delta$ ($S_{1405-1480}/S_{2050-2080}$)	s_r
1	55	15	30	2.6 ± 0.1	2.81 ± 0.07	0.03	1.18 ± 0.04	0.03	2.21 ± 0.05	0.02	2.38 ± 0.09	0.03
2	45	20	35	2.05 ± 0.08	3.12 ± 0.08	0.03	1.11 ± 0.04	0.03	1.85 ± 0.05	0.02	2.81 ± 0.07	0.02
3	40	35	20	2.01 ± 0.07	4.37 ± 0.11	0.03	1.27 ± 0.05	0.03	1.58 ± 0.06	0.03	3.44 ± 0.09	0.02
4	35	40	25	1.64 ± 0.04	4.49 ± 0.11	0.02	1.25 ± 0.05	0.03	1.31 ± 0.03	0.02	3.59 ± 0.09	0.02
5	35	40	35	1.55 ± 0.06	4.18 ± 0.10	0.03	1.17 ± 0.03	0.02	1.32 ± 0.03	0.02	3.57 ± 0.09	0.02
6	30	65	5	1.35 ± 0.03	5.76 ± 0.14	0.02	1.21 ± 0.03	0.02	1.12 ± 0.03	0.02	4.76 ± 0.12	0.02
7	30	60	10	1.49 ± 0.06	5.69 ± 0.14	0.03	1.26 ± 0.05	0.03	1.18 ± 0.03	0.02	4.52 ± 0.11	0.02
8	25	60	15	1.28 ± 0.03	5.91 ± 0.15	0.02	1.31 ± 0.05	0.03	0.98 ± 0.02	0.02	4.51 ± 0.11	0.02
9	15	60	25	0.78 ± 0.03	5.71 ± 0.14	0.03	1.26 ± 0.05	0.03	0.62 ± 0.02	0.02	4.53 ± 0.11	0.02

Таблица 3. Параметры для косвенного определения содержания гемицеллюлозы ($n = 5$, $P = 0.95$)

Образец	$X_1 = \frac{\omega_{\text{лигн}}}{\omega_{\text{целл}} + \omega_{\text{гемицелл}}}$	S_1	s_r	$X_2 = \frac{\omega_{\text{целл}}}{\omega_{\text{лигн}} + \omega_{\text{гемицелл}}}$	S_2	s_r
1	1.22	2.21 ± 0.05	0.02	0.18	2.38 ± 0.09	0.03
2	0.82	1.85 ± 0.07	0.03	0.25	2.81 ± 0.07	0.02
3	0.73	1.58 ± 0.06	0.03	0.58	3.44 ± 0.09	0.02
4	0.54	1.31 ± 0.03	0.02	0.67	3.59 ± 0.09	0.02
5	0.47	1.32 ± 0.03	0.02	0.57	3.57 ± 0.09	0.02
6	0.43	1.12 ± 0.03	0.02	1.86	4.76 ± 0.12	0.02
7	0.43	1.18 ± 0.03	0.02	1.50	4.52 ± 0.11	0.02
8	0.33	0.98 ± 0.02	0.02	1.50	4.51 ± 0.11	0.02
9	0.18	0.62 ± 0.02	0.02	1.50	4.53 ± 0.11	0.02

для уравнения (1) — 0.9947 и для уравнения (2) — 0.9977.

$$\omega_{\text{лигн}} = \frac{S_1 + 0.0504}{0.0407}, \quad (1)$$

$$\omega_{\text{целл}} = \frac{S_2 - 1.7926}{0.0455}. \quad (2)$$

Определение гемицеллюлозы в тройных смесях выполняли с помощью косвенных корреляций, в частности, рассматривали зависимость отношения содержания лигнина к суммарному содержанию целлюлозы и гемицеллюлозы (X_1) к параметру S_1 или зависимость отношения содержания целлюлозы к суммарному содержанию гемицеллюлозы и лигнина (X_2) к параметру S_2 (табл. 3).

Данные зависимости наиболее точно соответствуют степенным функциям, представленным в виде линейных зависимостей с помощью замены переменных: уравнение (3) (модель 1) и уравнение (4) (модель 2).

$$\ln X_1 = (1.4833 \pm 0.0652) \ln S_1 - (1.0501 \pm 0.0278), \quad (3)$$

$n = 5, \quad P = 0.95, \quad r = 0.9933,$

$$\ln X_2 = (3.4857 \pm 0.1269) \ln S_2 - (4.8673 \pm 0.1685), \quad (4)$$

$n = 5, \quad P = 0.95, \quad r = 0.9954.$

Содержание гемицеллюлозы вычисляли по формулам (5) и (6), выведенным из уравнений (3) и (4) соответственно:

$$\omega_{\text{гемицелл}} = \frac{\omega_{\text{лигн}}}{X_1} - \omega_{\text{целл}}, \quad (5)$$

$$\omega_{\text{гемицелл}} = \frac{\omega_{\text{целл}}}{X_2} - \omega_{\text{лигн}}. \quad (6)$$

С использованием уравнений (1), (2), (5) и (6) определили пределы определения лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы. Для этого готовили тройные смеси, содержащие от 1 до 10 мас. % каждого компонента, тогда как остаток смеси со-

ставляли оставшиеся компоненты в равных соотношениях. Установили, что предел обнаружения лигнина составляет >3%, целлюлозы — >8% и гемицеллюлозы — >9%. Затем, применяя уравнения (1), (2), (5) и (6), вычислили содержание лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы в растительных материалах (табл. 4), здесь же приведены литературные данные. Как видно из табл. 4, рассчитанные на основании ИК-спектров данные по составу растительных материалов в целом соответствуют приведенным в литературе значениям [31, 32]. Сравнение результатов для гемицеллюлозы, полученных с помощью уравнений (5) и (6), говорит о том, что модель тройных смесей дает разумные значения содержания гемицеллюлозы для большинства образцов растительной биомассы, за исключением овсяной, пшеничной, ячменной соломы, стеблей кукурузы, подсолнечника и скорлупы некоторых орехов, что, по-видимому, объясняется отличием реального состава данных образцов биомассы от состава тройных смесей из-за присутствия в них других компонентов, таких как экстрактивные вещества и белки, которые не учитывались в данном исследовании.

Относительное стандартное отклонение результатов анализа всех образцов не превышает 0.04, поэтому можно утверждать, что разработанная методика характеризуется хорошей воспроизводимостью измерений.

Методом введено—найденно оценили правильность предложенной методики определения лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы. Для этого готовили образцы, состоящие из 80 мас. % растительного материала с добавкой 20 мас. % лигнина, целлюлозы или гемицеллюлозы. Анализировали три независимо приготовленных одинаковых по составу образцах. В табл. 5 приведены вычисленные и найденные содержания лигнина, целлюлозы или гемицеллюлозы в данных образцах. Для определения гемицеллюлозы использовали уравнение (5). Представленные в табл. 5 данные сви-

Таблица 4. Содержание (%) лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы в образцах лигноцеллюлозной биомассы, рассчитанные на основе ИК-спектров и приведенные в литературе ($n = 5$, $P = 0.95$)

Образец	Лигнин			Целлюлоза			Гемицеллюлоза				
	ИК	s_r	данные литературы	ИК	s_r	данные литературы	ИК (1)	s_r	ИК (2)	s_r	данные литературы
Древесина ели [31]* Древесина сосны [31] Древесина лиственницы [31] Древесина осины [31] Древесина тополя [31] Древесина бука [31] Древесина дуба [31] Древесина ивы [31] Древесина вишни [31] Ячменная солома [31] Пшеничная солома [31] Овсяная солома [32] Стебли кукурузы [32] Сердцевины початков кукурузы [32] Стебли подсолнечника [32] Скорлупа семян подсолнечника [32] Скорлупа грецкого ореха [31] Скорлупа арахиса [32] Скорлупа фисташки [31] Скорлупа фундука [32] Скорлупа миндаля [31] Скорлупа кедрового ореха [31] Скорлупа кокосового ореха [32] Солома камыша [32]	26.6 ± 1.3	0.04	27.9	46.1 ± 1.1	0.02	45.5	28.35 ± 0.7	0.02	26.3 ± 1.0	0.03	22.9
	19.10 ± 0.95	0.04	20.0	47.0 ± 1.2	0.02	42.0–50.0	38.4 ± 1.4	0.03	32.8 ± 1.2	0.03	24.0–27.0
	29.8 ± 1.5	0.04	28.5	48.0 ± 1.8	0.03	47.5	22.1 ± 0.8	0.03	20.8 ± 0.8	0.03	24.5
	20.3 ± 1.0	0.04	19.5	51.1 ± 1.3	0.02	52.7	32.5 ± 1.6	0.04	26.9 ± 1.0	0.03	21.7
	31.0 ± 1.2	0.03	29.1	38.0 ± 1.4	0.03	39.8	30.6 ± 1.1	0.03	33.5 ± 1.3	0.03	14.8
	23.7 ± 1.2	0.04	21.0	39.1 ± 1.5	0.03	40.0	39.55 ± 2.0	0.04	39.1 ± 1.0	0.02	23.0
	32.5 ± 1.2	0.03	35.4	44.1 ± 1.6	0.03	43.2	22.7 ± 0.8	0.03	23.0 ± 0.9	0.03	21.9
	17.9 ± 0.7	0.03	16.9–18.9	43.0 ± 1.6	0.03	42.4–45.3	44.0 ± 1.6	0.03	39.1 ± 1.5	0.03	20.6–22.9
	19.6 ± 0.7	0.03	18.0	46.1 ± 1.7	0.03	46.0	38.6 ± 1.4	0.03	33.4 ± 1.2	0.03	29.0
	10.1 ± 0.5	0.04	6.3–13.1	41.0 ± 2.0	0.04	36.0–43.0	50.1 ± 2.5	0.04	49.7 ± 1.9	0.03	24.0–33.0
	13.3 ± 0.5	0.03	12.0–16.0	37.1 ± 1.4	0.03	35.0–39.0	54.6 ± 2.0	0.03	52.7 ± 2.0	0.03	23.0–30.0
	14.7 ± 0.7	0.04	10.0–15.0	32.95 ± 1.6	0.04	31.0–35.0	57.7 ± 2.9	0.04	58.3 ± 2.9	0.04	20.0–26.0
	12.0 ± 0.5	0.03	7.0–18.4	38.0 ± 1.4	0.03	35.0–39.6	54.0 ± 2.0	0.03	52.45 ± 1.95	0.03	16.8–35.0
	7.7 ± 0.4	0.04	6.1–15.9	39.95 ± 1.5	0.03	33.7–41.2	46.1 ± 2.3	0.04	53.7 ± 2.7	0.04	31.9–36.0
	9.1 ± 0.3	0.03	7.7–13.4	41.0 ± 1.5	0.03	34.1–42.1	48.7 ± 1.8	0.03	50.6 ± 1.9	0.03	5.18–9.71
	23.5 ± 1.2	0.04	20–25	48.0 ± 1.2	0.02	45–55	30.9 ± 1.5	0.04	27.1 ± 1.4	0.04	23–28
	52.1 ± 1.9	0.03	53.5	24.0 ± 0.9	0.03	23.3	24.3 ± 0.9	0.03	34.8 ± 1.3	0.03	20.4
	28.6 ± 1.1	0.03	28.0	38.0 ± 1.4	0.03	37.0	33.8 ± 1.3	0.03	35.9 ± 1.3	0.03	18.7
	30.0 ± 1.1	0.03	29.4	15.9 ± 0.8	0.04	15.2	54 ± 2	0.03	51.5 ± 1.9	0.03	38.2
39.25 ± 1.95	0.04	38.0	30.1 ± 1.5	0.04	30.0	29.1 ± 1.4	0.04	38.8 ± 1.9	0.04	23	
35.4 ± 1.3	0.03	36.0	27.1 ± 1.0	0.03	27.0	36.3 ± 1.4	0.03	47.7 ± 1.8	0.03	30	
37.6 ± 1.9	0.04	38.0	32.1 ± 1.6	0.04	31.0	28.9 ± 1.4	0.04	37.0 ± 1.8	0.04	25	
31.0 ± 0.8	0.02	29.0	37.1 ± 1.4	0.03	36.0	31.5 ± 0.8	0.02	34.9 ± 0.9	0.02	25	
9.1 ± 0.5	0.04	8.7	50.0 ± 1.9	0.03	49.4	39.8 ± 2.0	0.04	39.3 ± 2.0	0.04	31.5	

* Данные для сравнения взяты из работ, ссылки на которые приведены после названия образца.

Таблица 5. Вычисленные и найденные по методу введено—найденно содержания лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы в образцах лигноцеллюлозной биомассы ($n = 5$, $P = 0.95$)

Образец (80%)	Лигнина (+20%)		s_r	Целлюлозы (+20%)		s_r	Гемицеллюлозы (+20%)		s_r
	вычислено	найденно		вычислено	найденно		вычислено	найденно	
Древесина ели	41.3	41.55 ± 0.5	0.01	56.7	56.8 ± 0.7	0.01	42.7	43.1 ± 0.5	0.01
Древесина сосны	35.3	35.3 ± 0.4	0.01	57.6	57.8 ± 0.7	0.01	50.7	51.0 ± 0.6	0.01
Древесина лиственницы	43.8	43.7 ± 0.5	0.01	58.4	58.4 ± 0.7	0.01	37.7	37.9 ± 0.5	0.01
Древесина осины	36.2	36.5 ± 0.9	0.02	60.9	61.0 ± 0.8	0.01	46.0	47.0 ± 0.6	0.01
Древесина тополя	44.8	44.60 ± 0.55	0.01	50.4	50.8 ± 0.6	0.01	44.5	44.8 ± 0.6	0.01
Древесина бука	39.0	39.0 ± 0.5	0.01	51.3	51.6 ± 0.6	0.01	51.6	51.4 ± 1.3	0.02
Древесина дуба	46.0	46.1 ± 1.2	0.02	55.3	55.6 ± 0.7	0.01	38.1	38.5 ± 1.0	0.02
Древесина ивы	34.3	34.2 ± 0.4	0.01	54.4	54.9 ± 0.7	0.01	55.2	55.5 ± 0.7	0.01
Древесина вишни	35.7	35.6 ± 0.9	0.02	56.9	57.1 ± 0.7	0.01	50.9	51.1 ± 1.3	0.02
Ячменная солома	28.1	28.0 ± 0.4	0.01	52.8	53.1 ± 0.7	0.01	60.1	59.9 ± 0.7	0.01
Пшеничная солома	30.6	30.8 ± 0.8	0.02	49.7	49.9 ± 0.6	0.01	63.7	63.6 ± 1.6	0.02
Овсяная солома	31.8	31.95 ± 0.4	0.01	46.4	46.4 ± 1.2	0.02	66.2	66.3 ± 1.7	0.02
Стебли кукурузы	29.2	29.7 ± 0.4	0.01	50.4	50.5 ± 1.3	0.02	63.2	63.8 ± 0.8	0.01
Сердцевинки початков кукурузы	26.1	26.4 ± 0.7	0.02	52.0	52.1 ± 0.7	0.01	56.9	57.0 ± 1.4	0.02
Стебли подсолнечника	27.3	27.6 ± 0.3	0.01	52.8	52.6 ± 0.7	0.01	59.0	59.2 ± 0.7	0.01
Скорлупа семян подсолнечника	38.8	38.6 ± 0.5	0.01	58.4	58.9 ± 0.7	0.01	44.7	44.35 ± 0.55	0.01
Скорлупа грецкого ореха	61.7	61.6 ± 0.8	0.01	39.2	39.4 ± 0.5	0.01	39.5	40.0 ± 0.5	0.01
Скорлупа арахиса	42.85	42.4 ± 1.1	0.02	50.4	50.8 ± 0.6	0.01	47.0	47.1 ± 0.6	0.01
Скорлупа фисташки	44.0	44.2 ± 0.6	0.01	32.7	32.9 ± 0.4	0.01	63.2	63.4 ± 0.8	0.01
Скорлупа фундука	51.4	51.05 ± 0.6	0.01	44.1	44.3 ± 1.1	0.02	43.3	43.7 ± 0.5	0.01
Скорлупа миндаля	48.3	48.6 ± 0.6	0.01	41.6	41.8 ± 1.0	0.02	49.0	48.9 ± 1.2	0.02
Скорлупа кедрового ореха	50.0	49.9 ± 1.2	0.02	45.7	45.6 ± 0.6	0.01	43.1	43.9 ± 1.1	0.02
Скорлупа кокосового ореха	44.8	45.65 ± 0.6	0.01	49.7	50.0 ± 1.2	0.02	45.2	45.5 ± 1.1	0.02
Солома камыша	27.3	28.7 ± 0.4	0.01	60.0	60.5 ± 1.5	0.02	51.8	51.95 ± 0.65	0.01

детельствуют о правильности разработанной методики для определения лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы в растительных материалах.

лагаемой методики проверена методом введено—найденно.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

* * *

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М.: Экология, 1991. 320 с.
2. Baeza J., Freer J. Chemical characterization of wood and its components / Wood and Cellulosic Chemistry / Eds. Hon D.N.S., Shiraishi D. N. S. Boca Raton: CRC

Таким образом, с помощью ИК-Фурье спектроскопии, используя стандартный метод пресования таблеток с КВг, при соблюдении условий одинаковой степени измельчения материала таблетки и точности взвешивания возможно определение содержания лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы в растительных материалах по уравнениям градуировочных функций, полученным для основе тройных смесей, состоящих из лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы. Правильность пред-

- Press, 2000. P. 275.
<https://doi.org/10.1201/9781482269741>
3. Tian X., Fang Z., Smith R.L., Wu Z., Liu M. Properties, chemical characteristics and application of lignin and its derivatives / Production of Biofuels and Chemicals from Lignin / Eds. Fang Zh., Smith R.L. Singapore: Springer, 2016. P. 3.
https://doi.org/10.1007/978-981-10-1965-4_1
 4. Tappi T222 Om-02. Acid-insoluble lignin in wood and pulp. TAPPI Test Methods, 2006. <https://www.tappi.org/content/SARG/T222.pdf> (18.11.2022).
 5. Castillo R.P., Peña-Farfal C., Neira Y., Freer J. Advances in analytical methodologies based on infrared spectroscopy for analysis of lignocellulosic materials: From classic characterization of functional groups to FT-IR imaging and micro-quantification / Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR): Methods, Analysis and Research Insights / Ed. Moore E. N.Y.: Nova Science, 2016. P. 36.
 6. Карклин Б.Н., Трейманис А.П., Громов В.С. ИК-спектроскопия древесины и ее основных компонентов. VI. Определение содержания лигнина в препаратах сульфатной целлюлозы по ИК-спектрам // Химия древесины. 1975. № 2. С. 52.
 7. Карклин В.Б., Эйдус Я.А., Крейцберг З.Н. ИК-спектроскопия древесины и ее основных компонентов. XII. Спектрохимические корреляции и их применение к анализу лигнина в древесине // Химия древесины. 1977. № 4. С. 90.
 8. Деркачева О.Ю., Цыпкин Д.О. Оценка содержания лигнина в волокнах бумаги по данным ИК спектроскопии отражения // Журн. прикл. спектроскопии. 2017. Т. 84. № 6. С. 993. (Derkacheva O.Y., Tsyupkin D.O. Lignin content in paper fibers assessed using IR reflectance spectroscopy // J. Appl. Spectrosc. 2018. V. 84. № 6. P. 1071.)
<https://doi.org/10.1007/s10812-018-0588-6>
 9. Афанасьев Н.И., Личутина Т.Ф., Русакова М.А., Прошкин Г.Ф., Вишнякова А.П., Сухов Д.А., Деркачева О.Ю. Оценка содержания и структурных изменений остаточного лигнина и смолы в лиственной сульфатной целлюлозе методом ИК Фурье-спектроскопии // Журн. прикл. спектроскопии. 2006. Т. 79. № 10. С. 1706. (Afanas'ev N.I., Lichutina T.F., Rusakova M.A., Prokshin G.F., Vishnyakova A.P., Sukhov D.A., Derkacheva O.Y. Estimation of the content and assessment of structural transformations of residual lignin and resin in deciduous kraft pulp by Fourier IR spectroscopy // Russ. J. Appl. Chem. 2006. V. 79. № 10. P. 1689.)
<https://doi.org/10.1134/S1070427206100260>
 10. Деркачева О.Ю., Сухов Д.А., Федоров А.В. Оценка состояния лигнина в сульфатных волокнах по данным ИК спектроскопии // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия. 2017. № 1. С. 71.
 11. Fiskari J., Derkacheva O., Kulomaa T., Sukhov D. Quick non-destructive analysis of lignin condensation and precipitation by FTIR // Cellul. Chem. Technol. 2016. V. 50. № 2. P. 217.
 12. Fiskari J., Derkacheva O., Kulomaa T. Quick non-destructive analysis of condensed lignin by ftir. Part 2. Pulp samples from acid sulfite cooking // Cellul. Chem. Technol. 2021. V. 55. № 3–4. P. 270.
<https://doi.org/10.35812/CELLULOSECHEM-TECHNOL.2021.55.26>
 13. Traoré M., Kaal J., Martínez Cortizas A. Application of FTIR spectroscopy to the characterization of archaeological wood // Spectrochim. Acta A. 2016. V. 153. P. 63.
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.07.108>
 14. Пожидает В.М., Ретивов В.М., Панарина Е.И., Сергеева Я.Э., Жданович О.А., Яцишина Е.Б. Разработка метода идентификации породы древесины в археологических материалах методом ИК-спектроскопии // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 12. С. 911. (Pozhidaev V.M., Sergeeva Y.E., Yatsishina E.B., Retivov V.M., Panarina E.I., Zhdanovich O.A. Development of a method for identifying wood species in archaeological materials by IR spectroscopy // J. Anal. Chem. 2019. V. 74. № 12. P. 1192.)
<https://doi.org/10.1134/S1061934819120104>
 15. Пожидает В.М., Сергеева Я.Э., Малахов С.Н., Яцишина Е.Б. Идентификация породы археологической древесины методом ИК-спектроскопии // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 5. С. 408. (Pozhidaev V.M., Sergeeva Y.E., Malakhov S.N., Yatsishina E.B. Identification of archaeological wood species by IR spectroscopy // J. Anal. Chem. 2021. V. 76. № 5. P. 573.)
<https://doi.org/10.1134/S1061934821050142>
 16. Pandey K.K. A study of chemical structure of soft and hardwood and wood polymers by FTIR spectroscopy // J. Appl. Polym. Sci. 1999. V. 71. № 12. P. 1975.
[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4628\(19990321\)71:12<1969::aid-app6>3.0.co;2-d](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4628(19990321)71:12<1969::aid-app6>3.0.co;2-d)
 17. Traoré M., Kaal J., Martínez Cortizas A. Differentiation between pine woods according to species and growing location using FTIR-ATR // Wood Sci. Technol. 2018. V. 52. № 2. P. 487.
<https://doi.org/10.1007/s00226-017-0967-9>
 18. Xu F., Yu J., Tesso T., Dowell F., Wang D. Qualitative and quantitative analysis of lignocellulosic biomass using infrared techniques: A mini-review // Appl. Energy. 2013. V. 104. P. 809.
<https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.12.019>
 19. Gogna M., Goacher R.E. Comparison of three fourier transform infrared spectroscopy sampling techniques for distinction between lignocellulose samples // BioResources. 2018. V. 13. № 1. P. 846.
<https://doi.org/10.15376/biores.13.1.846-860>
 20. Wang Y., Xiang J., Tang Y., Chen W., Xu Y. A review of the application of near-infrared spectroscopy (NIRS) in forestry // Appl. Spectrosc. Rev. 2022. V. 57. № 4. P. 300.
<https://doi.org/10.1080/05704928.2021.1875481>
 21. Javier-Astete R., Jimenez-Davalos J., Zolla G. Determination of hemicellulose, cellulose, holocellulose and lignin content using FTIR in Calycophyllum spruceanum (Benth.) K. Schum. and Guazuma crinita Lam. // PLoS ONE. 2021. V. 16. № 10. Article e0256559.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256559>
 22. Toscano G., Maceratesi V., Leoni E., Stipa P., Laudadio E., Sabbatini S. FTIR spectroscopy for determination of the raw materials used in wood pellet production // Fu-

- el. 2022. V. 313. Article 123017.
<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.123017>
23. *Acquah G.E., Via B.K., Fasina O.O., Eckhardt L.G.* Rapid quantitative analysis of forest biomass using Fourier transform infrared spectroscopy and partial least squares regression // *J. Anal. Methods: Chem.* 2016. Article 1839598.
<https://doi.org/10.1155/2016/1839598>
24. *Popescu C.-M., Jones D., Kržišnik D., Humar M.* Determination of the effectiveness of a combined thermal/chemical wood modification by the use of FT-IR spectroscopy and chemometric methods // *J. Mol. Struct.* 2020. V. 1200. Article 127133.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127133>
25. *Funda T., Fundova I., Gorzsás A., Fries A., Wu H.X.* Predicting the chemical composition of juvenile and mature woods in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) using FTIR spectroscopy // *Wood Sci. Technol.* 2020. V. 54. № 2. P. 289.
<https://doi.org/10.1007/s00226-020-01159-4>
26. *Vârban R., Crişan I., Vârban D., Ona A., Olar L., Stoie A., Ştefan R.* Comparative FT-IR prospecting for cellulose in stems of some fiber plants: Flax, velvet leaf, hemp and jute // *Appl. Sci.* 2021. V. 11. № 18. Article 8570.
<https://doi.org/10.3390/app11188570>
27. *Grigoryevich A.B., Semyon M., Alexander M., Leonidovich Y.R.* Characteristics of aging of wood-fiberboard from the position of IR spectroscopy // *JAES.* 2020. V. 18. № 4. P. 624.
<https://doi.org/10.5937/jaes0-29431>
28. *Lehto J., Louhelainen J., Kłosińska T., Drożdżek M., Alén R.* Characterization of alkali-extracted wood by FTIR-ATR spectroscopy // *Biomass Convers. Biorefin.* 2018. V. 8. № 4. P. 847.
<https://doi.org/10.1007/s13399-018-0327-5>
29. *Мамлеева Н.А., Шумянцева А.В., Харланов А.Н.* Деградация структуры древесины *Populus tremula* при делигнификации озоном. Термический анализ // *Журн. физ. химии.* 2021. Т. 95. № 4. С. 534. (*Mamleeva N.A., Shumyantseva A.V., Kharlanov A.N.* Degradation of structure of *Populus tremula* Wood during delignification with ozone. Thermal analysis // *Russ. J. Phys. Chem.* 2021. V. 95. P. 682.)
<https://doi.org/10.31857/S0044453721040166>
30. *Weiwei Z., Xiangdong Ch., Guohui L., Gaoping J., Ye L., Guoqiang L., Choong Y.K., Jin L.* Study on the chemical changes of *Quercus acuttissima* by *Ganoderma lucidum* cultivation after different years by FTIR analysis // *Spectrochim. Acta A.* 2022. V. 266. Article 120443.
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.120443>
31. *Kumar B., Bhardwaj N., Agrawal K., Chaturvedi V., Verma P.* Current perspective on pretreatment technologies using lignocellulosic biomass: An emerging biorefinery concept // *Fuel Process. Technol.* 2020. V. 199. Article 106244.
<https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2019.106244>
32. *Nanda S., Mohammad J., Reddy S.N., Kozinski J.A., Dalai A.K.* Pathways of lignocellulosic biomass conversion to renewable fuels // *Biomass Convers. Biorefin.* 2013. № 4. P. 191.
<https://doi.org/10.1007/s13399-013-0097-z>
33. *Ревин В.В., Лияськина Е.В., Сапунова Н.Б., Богатырева А.О.* Выделение и характеристика штаммов — продуцентов бактериальной целлюлозы // *Микробиология.* 2020. Т. 89. № 1. С. 88. (*Revin V.V., Liyas'kina E.V., Sapunova N.B., Bogatyreva A.O.* Isolation and characterization of the strains producing bacterial cellulose // *Microbiology.* 2020. V. 89. P. 95.)
<https://doi.org/10.1134/S0026261720010130>
34. *da Silva Braga R., Poletto M.* Preparation and characterization of hemicellulose films from sugarcane bagasse // *Materials.* 2020. V. 13. № 4. Article 941.
<https://doi.org/10.3390/ma13040941>
35. *Fai O., Böttcher J.H.* The influence of particle size and concentration in transmission and diffuse reflectance spectroscopy of wood // *Holz. Roh. Werkst.* 1992. V. 50. № 6. P. 221.
<https://doi.org/10.1007/BF02650312>
36. ГОСТ Р 56881-2016. Биомасса. Определение зольности стандартным методом Biomass. Determination of the ash content by standard method. М.: Стандартинформ, 2019. С. 6.
37. *Базарнова Н.Г., Карпова Е.В., Катраков И.Б., Маркин В.И., Микушина И.В., Ольхов Ю.А., Худенко С.В.* Методы исследования древесины и ее производных. Барнаул: Изд-во Алт. гос. ун-та, 2002. 160 с.
38. *Raspolli Galletti A.M., D'Alessio A., Licursi D., Antonetti C., Valentini G., Galia A., Di Nasso N.N.* Midinfrared FT-IR as a tool for monitoring herbaceous biomass composition and its conversion to furfural // *J. Spectroscopy.* 2015. V. 2015. Article 719042.
<https://doi.org/10.1155/2015/719042>

УДК 543.544

СОРБЕНТЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИСТИРОЛ–ДИВИНИЛБЕНЗОЛА С ПРИВИТЫМ ГИДРОФИЛИЗОВАННЫМ ПОЛИЭТИЛЕНИМИНОМ ДЛЯ ИОННОЙ И ГИДРОФИЛЬНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

© 2023 г. А. В. Горбовская^а, Е. К. Попкова^а, А. С. Ужель^{а, *}, О. А. Шпигун^а, А. В. Затираха^{а, 1}

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

*e-mail: anna_uzhel@mail.ru

Поступила в редакцию 15.11.2022 г.

После доработки 29.12.2022 г.

Принята к публикации 29.12.2022 г.

С целью расширения области применения анионообменников на основе сополимера стирола и дивинилбензола с привитым полиэтиленимином, кватернизованным глицидолом, осуществлено варьирование условий их синтеза: количества добавленного глицидола, температуры и продолжительности синтеза. Исследовано влияние данных факторов на емкость, селективность и эффективность сорбентов в режиме ионной хроматографии с подавлением, кроме того, неподвижные фазы изучены в режиме гидрофильной хроматографии с помощью теста Танака. Показано, что исследуемые условия синтеза позволяют управлять емкостью и селективностью анионообменников, при этом их гидрофильность меняется незначительно. Впервые изучено поведение оксоанионов на ковалентно привитых сорбентах в режиме ионной хроматографии, а также продемонстрирована применимость фаз с кватернизованным полиэтиленимином в режиме гидрофильной хроматографии для разделения сахаров, аминокислот, водорастворимых витаминов, нуклеозидов и азотистых оснований.

Ключевые слова: ионная хроматография, сорбенты с привитым полимером, гидрофилизация, глицидол, гидрофильная хроматография.

DOI: 10.31857/S0044450223060063, **EDN:** DWPMRLR

Неподвижные фазы для ионной хроматографии (ИХ) получили значительное развитие за последние 20 лет как в виде коммерческих продуктов [1–4], так и в виде научных разработок [2, 5]. Интерес к получению новых сорбентов для ИХ связан с простотой и относительной доступностью метода, а также с его высокой чувствительностью в сочетании с кондуктометрическим детектированием и подавлением фоновой электропроводности. Подавляющее большинство современных анионообменников получают на основе полимерных матриц с высокой степенью сшивки, например, на основе сополимера стирола с дивинилбензолом (ПС–ДВБ), что связано с их высокой механической и химической стабильностью, а также возможностью их использования с чистыми органическими растворителями [1].

Современные анионообменники наряду с совместимостью с сильнощелочными элюентами должны также демонстрировать высокие значения эффективности, чего можно достичь за счет

формирования тонких ионообменных слоев, обеспечивающих быстрый массоперенос. Способ закрепления функциональных слоев может быть электростатическим и ковалентным. Для сорбентов с ковалентным закреплением ионообменных слоев зачастую характерны невысокие эффективности, что связано с недостаточным экранированием поверхности полимерной гидрофобной матрицы. В результате удерживание поляризуемых и слабо гидратированных анионов, таких как бромид, нитрат, иодид, роданид, перхлорат и др., определяется не только ионным обменом, но и адсорбционными и π – π взаимодействиями с поверхностью ароматического субстрата. Модифицирование полимерных матриц сложно ограничить лишь поверхностью – функциональные группы могут образовываться в порах частиц. В результате некоторые ионообменные центры, находящиеся внутри частицы в области, сшитой в значительной степени, будут слабо гидратированы. Это также снижает эффективность ковалентно привитых фаз и приводит к повышению асимметрии пиков. Сорбенты с электростатическим закреплением ионообменных слоев на поверхно-

¹ Организация указана на момент выполнения работы.

сти сульфированной матрицы зачастую значительно более эффективны, поскольку анионы электростатически отталкиваются от отрицательно заряженной поверхности частиц, а массоперенос происходит в тонком ионообменном слое. Однако с точки зрения селективности такие фазы проигрывают некоторым гиперразветвленным ковалентно привитым сорбентам, например, по селективности по отношению к органическим кислотам [6, 7].

В связи с этим представляет интерес разработка ковалентно привитых фаз с альтернативной селективностью и высокой эффективностью. В последнее десятилетие предложено много способов повышения эффективности таких анионообменников. К ним можно отнести повышение гидрофильности единичных ионообменных центров [8–10], пространственное удаление функциональных групп от поверхности матрицы с помощью гидрофильных спейсеров [11, 12] или экранирование поверхности гидрофобной матрицы с помощью создания разветвлённых слоев [10, 13]. Наиболее успешным способом улучшения хроматографических свойств ковалентно привитых анионообменников является сочетание перечисленных выше подходов. Например, возможно ковалентное закрепление на модифицированной полимерной матрице гиперразветвленных слоев, полученных с использованием гидрофильных диэпоксидов и первичных аминов [14, 15], или полиэлектролитных цепочек из гидрофильных диэпоксидов и вторичных аминов, формируемых *in situ* [16]. Также дополнительное экранирование можно обеспечить за счет покрытия ароматической матрицы слоем разветвленного полиэтиленimina (ПЭИ) [17, 18]. Для создания гидрофильного ионообменного слоя в работе [17] проводили алкилирование аминогрупп полиаминов с помощью глицидола, служащего кватернизирующим и гидрофилизующим агентом. Такой анионообменник продемонстрировал сравнительно высокую гидрофильность, подходил для одновременного определения слабо- и сильноудерживаемых аналитов и в градиентном режиме обеспечивал разделение 16 анионов. Преимуществом предложенного подхода является простота получения анионообменников в три стадии из аминированной матрицы. Кроме того, известна [19, 20] способность глицидола к полимеризации. За счет выбора условий реакции алкилирования можно варьировать соотношение между количествами глицидола, участвующими в процессах кватернизации и полимеризации. Полимеризацию глицидола ранее осуществляли на поверхности силикагеля [21, 22] и сополимера глицидилметакрилата и дивинилбензола [23] для создания неподвижных фаз, подходящих для работы в режиме гидрофильной хроматографии (ГИХ). При этом модифицирование глицидолом гидроксильной группы, находя-

щейся в β -положении к четвертичному атому азота, позволяет изменить селективность получаемой неподвижной фазы, степень гидрофилизации и экранирования матрицы путем варьирования количества циклов взаимодействия с глицидолом и условий синтеза [24].

Стоит отметить, что в связи с повышенной степенью гидрофилизации современных анионообменников, а также с устойчивостью их основы к органическим растворителям, они могут выступать в роли многофункциональных фаз. Например, гиперразветвленный сорбент на основе аминированного ПС-ДВБ подходил не только для определения анионов, но и для разделения широкого круга аналитов в режимах ГИХ и обращенно-фазовой ВЭЖХ [25]. Тем не менее данная фаза обладала низкой селективностью и характеризовалась недостаточно экспрессным разделением некоторых соединений, например, аминокислот и водорастворимых витаминов. Создание функционального слоя другого строения, закрепленного на поверхности аналогичного субстрата, позволит получить неподвижные фазы с альтернативной селективностью.

Цель данной работы – получение неподвижных фаз на основе аминированного ПС-ДВБ с привитым ПЭИ, кватернизованным глицидолом, для ИХ и ГИХ, а также исследование влияния на емкость, селективность и эффективность сорбентов условий синтеза – количества добавленного глицидола, температуры и продолжительности.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Приборы и материалы. В качестве матрицы для синтеза сорбентов использовали ПС-ДВБ, идентичный описанному в работах [25–29], со степенью сшивки 50%, средним диаметром зерен 5.5 ± 0.5 мкм, площадью поверхности $650 \text{ м}^2/\text{г}$ и средним диаметром пор 4 нм.

Для синтезов использовали следующие реактивы и растворители: гидрохлорид метиламина (99.9%) (“Sigma-Aldrich”, США), соляную кислоту х. ч. (Химмед, Россия), гидроксид натрия х. ч. (Химмед, Россия), глицидол (>96.0%, Sigma-Aldrich, США), 1,4-бутандиолдиглицидиловый эфир (>96.0%, Sigma-Aldrich, США), полиэтиленимин ($M \sim 800$) (Sigma-Aldrich, США).

Для приготовления подвижных фаз и растворов аналитов использовали деионизованную воду и реактивы квалификации х. ч. или ч. д. а. компаний Компонент-Реактив, Реахим, Химмед и Лабтех (Россия), Panreac (Испания), Merk (Германия), Sigma-Aldrich (США), TCI (Япония).

Эксперименты проводили на жидкостном хроматографе Dionex ICS-3000 (ThermoFisher Scientific, США), укомплектованном градиентным насосом, кондуктометрическим детектором, ге-

Таблица 1. Обозначения и условия синтеза для полученных сорбентов

Сорбент	Количество глицидола, моль	Температура синтеза, °С	Продолжительность синтеза, ч
BPEI-GI ×1	0.02	60	3
BPEI-GI ×3*	0.06	60	3
BPEI-GI ×10	0.20	60	3
BPEI-GI 60°C*	0.06	60	3
BPEI-GI 70°C**	0.06	70	3
BPEI-GI 80°C	0.06	80	3
BPEI-GI 3 ч**	0.06	70	3
BPEI-GI 10 ч	0.06	70	10
BPEI-GI 24 ч	0.06	70	24

*, ** Фазы, использованные сразу в двух экспериментах, и представляющие собой одинаковые анионообменники.

нератором элюента и электромембранным подавителем фонового сигнала; на жидкостном хроматографе 850 Professional IC (Metrohm, Швейцария), укомплектованном изократическим насосом, кондуктометрическим детектором и системой химического подавления фонового сигнала; на жидкостном хроматографе Dionex Ultimate 3000 (ThermoFisher Scientific, США), состоящем из двухканального насоса высокого давления, автоматической системы ввода пробы, термостата для колонок и детектора на диодной матрице; на жидкостном хроматографе Vanquish Flex с флуоресцентным и диодно-матричным детекторами. Объем дозирующей петли составлял 25 мкл.

Сбор и обработку хроматографических данных проводили с использованием программного обеспечения Chromeleon 6.8, Chromeleon 7.3 (ThermoFisher Scientific, США), MagIC Net 3.0 (Metrohm, Швейцария).

В процессе синтезов использовали следующее оборудование: термостат (Mettmert, Германия), вакуумный насос серии Laboport (KNF Neuberger, Германия), ультразвуковую ванну Сапфир 6580 (Сапфир, Россия), механическую мешалку Eurostar (IKA-Werke, Германия).

В работе использовали стальные колонки размером 100 × 4 мм. Для получения суспензии сорбента использовали деионизованную воду (20 мл на 1 г сорбента), а для упаковки колонок — 15 мМ раствор Na₂CO₃. Введение суспензии в хроматографическую колонку, упаковку и уплотнение частиц сорбента осуществляли при давлении 400 бар при помощи насоса Knauer K-1900 (Knauer, Германия). Колонки тестировали при 25°C в режиме ИХ и при 30°C в режиме ГИХ.

Синтез сорбентов. ПС-ДВБ аминировали способом, аналогичным описанному в работе [9]. Полиэтиленмин прививали в тех же условиях, что и в работе [17], и получали продукт BPEI.

В качестве исходных условий кватернизации аминогрупп ПЭИ глицидолом для получения сорбента-прототипа BPEI-GI ×1 выбрали условия, предложенные в работе [17], — температуру 60°C, количество глицидола 0.02 моль на 1 г матрицы, продолжительность синтеза 3 ч. Для исследования влияния количества глицидола также синтезировали анионообменники с трехкратным (BPEI-GI ×3) и десятикратным (BPEI-GI ×10) количеством глицидола по сравнению с исходной методикой. Для выбора оптимальной температуры проводили синтезы при 60, 70 и 80°C. При изучении влияния продолжительности синтеза обработку глицидолом проводили в течение 3, 10 и 24 ч. Названия анионообменников даны в соответствии с условиями синтеза в табл. 1.

Тест Танака. Для оценки свойств сорбентов в режиме ГИХ для всех фаз проводили тест Танака (табл. 2), изначально разработанный для гидрофильных неподвижных фаз на основе силикагеля с использованием толуола в качестве маркера мертвого времени [30]. Из-за наличия гидрофобных взаимодействий аналитов с ароматической основой вместо толуола использовали в качестве маркера *t*₀ воду [25].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время актуальным направлением является разработка многофункциональных сорбентов, применимых как в режиме ИХ, так и в ГИХ [25, 31]. Поскольку гидрофобные сорбенты на основе ПС-ДВБ не позволяют удерживать сильнополярные соединения, необходимо повышение их степени гидрофилизации. Это позволит улучшить хроматографические характеристики слабогидратированных гидрофобных анионов, а также за счет экранирования ароматической матрицы высокогидрофильными функциональными слоями такие сорбенты можно будет использо-

Таблица 2. Величины коэффициентов селективности теста Танака (элюент: CH₃CN—20 мМ ацетатно-аммонийный буферный раствор с рН 4.7 (90 : 10, по объему), скорость потока 0.5 мл/мин, УФ-детектирование при 254 нм)

Сорбент	$k(U)$	$\alpha(OH)$	$\alpha(CH_2)$	$\alpha(V/A)$	$\alpha(CX)$	$\alpha(AX)$	$\alpha(Tb/Tr)$
Влияние количества глицидола							
BPEI-G1 $\times 1$	1.10	2.09	1.31	1.46	0	68.3	0.26
BPEI-G1 $\times 3$	1.32	1.93	1.30	1.41	0	59.1	0.31
BPEI-G1 $\times 10$	1.56	1.98	1.31	1.37	0	61.7	0.38
Влияние температуры синтеза							
BPEI-G1 60°C	1.32	1.93	1.30	1.41	0	59.1	0.31
BPEI-G1 70°C	1.46	1.92	1.32	1.39	0	56.7	0.34
BPEI-G1 80°C	1.38	1.86	1.31	1.39	0	52.3	0.37
Влияние продолжительности синтеза							
BPEI-G1 3 ч	1.46	1.92	1.32	1.39	0	56.7	0.34
BPEI-G1 10 ч	1.57	1.91	1.34	1.38	0	60.9	0.33
BPEI-G1 24 ч	1.38	1.86	1.29	1.38	0	56.6	0.43

вать в режиме ГИХ. Ранее показано [17], что экранирование матрицы ПЭИ с его последующей кватернизацией глицидолом позволяет получить достаточно гидрофильный анионообменник, подходящий для разделения сильноудерживаемых анионов. Однако на данном сорбенте исследовано удержание узкого круга анионов, а возможность разделения полярных аналитов не оценивали. В связи с гидрофобной природой матрицы особый интерес представляет выявить, является ли данный функциональный слой достаточно гидрофильным для использования фаз в режиме ГИХ. Также стоит отметить, что в литературе не представлена количественная оценка гидрофильности фаз данного типа.

Влияние условий синтеза на гидрофильность, анионообменную емкость и эффективность сорбентов. Чаше всего гидрофильность анионообменников оценивают путем измерения удерживания ряда гомологов с линейной алкильной цепью, например карбоновых или алкансульфоновых кислот [26, 27, 32, 33]. Однако таким способом охарактеризованы в основном коммерческие сорбенты, структура которых защищена патентами и остается неизвестной. В то же время результаты разделения смеси пяти стандартных неорганических анионов (фторид, хлорид, нитрит, бромид, нитрат) приводятся в большинстве работ, посвященных разработке новых сорбентов для ИХ. В связи с этим в данной работе для оценки гидрофильности анионообменников предложено использовать ряд селективностей. По снижению $\alpha(NO_3^-/Cl^-)$ и $\alpha(NO_3^-/Br^-)$ можно судить о повышении степени гидрофиллизации и уменьшении влияния неанионообменных взаимодействий соответственно [14, 34, 35]. Также на увеличение

гидрофильности и снижение степени сшивки функционального слоя указывает уменьшение $\alpha(ClO_3^-/Cl^-)$ и $\alpha(ClO_3^-/NO_3^-)$ [36]. Снижение $\alpha(BrO_3^-/Cl^-)$ свидетельствует о повышении степени экранирования ароматической матрицы [14, 24, 34].

В качестве подвижной фазы в режиме ИХ с давлением при исследовании удерживания стандартных анионов и оксогалогенидов использовали 8 мМ раствор КОН. Для большинства полученных в работе анионообменников значения селективностей, характеризующие гидрофильность сорбентов и степень экранирования матрицы, изменяются незначительно (табл. 3). Такое изменение находится в пределах погрешности и указывает на близкую гидрофильность данных неподвижных фаз. Наибольшей гидрофильностью обладал сорбент, полученный при 80°C: по сравнению с фазой BPEI-G1 60°C значения $\alpha(BrO_3^-/Cl^-)$, $\alpha(ClO_3^-/Cl^-)$ и $\alpha(ClO_3^-/NO_3^-)$ уменьшились на 11, 11 и 9%. Следовательно, для значительного повышения гидрофильности сорбентов, модифицированных ПЭИ, изменения количества глицидола, времени и температуры синтеза недостаточно. Стоит отметить, что среди исследуемых факторов температура оказывает наибольшее влияние на степень гидрофиллизации и экранирования ароматической матрицы при разделении анионов.

В режиме ГИХ гидрофильность фаз принято оценивать с помощью теста Танака по фактору удерживания уридина $k(U)$. Изменение всех условий синтеза привело к возрастанию данного параметра по сравнению с сорбентом-прототипом BPEI-G1 $\times 1$ (табл. 2), при этом наибольшие

Таблица 3. Факторы удерживания хлорида и коэффициенты селективности по парам, отражающим степень гидрофиллизации функционального слоя в режиме ионной хроматографии (элюент: 8 мМ раствор КОН)

Сорбент	$k'(\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$	$\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{Cl}^-)$	$\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{NO}_3^-)$
Влияние количества глицидола						
BPEI-GI $\times 1$	0.6	3.38	1.33	1.42	4.56	1.35
BPEI-GI $\times 3$	1.3	3.25	1.29	1.34	4.21	1.29
BPEI-GI $\times 10$	2.4	3.38	1.25	1.30	4.27	1.26
Влияние температуры синтеза						
BPEI-GI 60°C	1.3	3.25	1.29	1.34	4.21	1.29
BPEI-GI 70°C	2.0	3.31	1.25	1.32	4.14	1.25
BPEI-GI 80°C	2.3	3.16	1.15	1.27	3.73	1.18
Влияние продолжительности синтеза						
BPEI-GI 3 ч	2.0	3.31	1.25	1.32	4.14	1.25
BPEI-GI 10 ч	3.6	3.13	1.19	1.27	3.78	1.21
BPEI-GI 24 ч	2.7	3.24	1.18	1.26	3.85	1.19

значения $k(U)$ наблюдались для фаз BPEI-GI $\times 10$, BPEI-GI 70°C и BPEI-GI 10 ч. При алкилировании аминогрупп ПЭИ глицидолом помимо кватернизации третичных атомов азота также возрастает степень замещения остальных атомов азота, присутствующих в структуре ПЭИ. Предположительно, наибольшие значения $k(U)$ для указанных фаз связаны с увеличением степени замещения аминогрупп ПЭИ в данных условиях. В результате такие аминогруппы в условиях теста Танака могут протонироваться, за счет чего возрастает гидрофильность фаз и увеличивается удерживание уридина. При дальнейшем увеличении температуры и продолжительности синтеза может возрасти скорость элиминирования по Гофману – отщепление аминогруппы при наличии водорода в β -положении, а также повышается степень полимеризация глицидола, что приводит к снижению числа более замещенных аминогрупп. Увеличение гидрофильности сорбента при повышении степени замещения аминогрупп уже отмечалось для цвиттер-ионных фаз [37]. По сравнению с фазой с привитым гиперразветвленным слоем на основе такой же аминированной матрицы, описанной в работе [25] и характеризующейся $k(U) = 7.20$, все полученные фазы обладали меньшей гидрофильностью в режиме ГИХ. Стоит отметить, что различия в гидрофильности полученных сорбентов с привитым ПЭИ не являлись существенными для значительных изменений в селективности по полярным анализам.

Емкость сорбентов оценивали по фактору удерживания хлорида ($k'(\text{Cl}^-)$), поведение которого определяется только ионнообменными взаимодействиями. Влиянием элюирующей силы гидроксид-иона на данный параметр можно пре-

небречь, поскольку все полученные в работе сорбенты демонстрировали близкую гидрофильность. С увеличением количества глицидола и температуры синтеза наблюдали рост ионообменной емкости сорбентов (табл. 3). При повышении продолжительности синтеза с 3 до 10 ч $k'(\text{Cl}^-)$ сначала возрастал, а затем снижался для сорбента, синтезированного в течение 24 ч, что может быть связано с протеканием реакции элиминирования по Гофману. Рост ионообменной емкости при практически неизменной гидрофильности свидетельствует о том, что при данных условиях доминирующим процессом является кватернизация аминогрупп ПЭИ глицидолом. При этом увеличение $k'(\text{Cl}^-)$, непропорциональное изменению количества глицидола, может быть связано с расходом части оксирана на полимеризацию, в том числе на гомополимеризацию в растворе.

Для исключения влияния качества упаковки колонок введено нормирование эффективности неорганических анионов на эффективность по хлориду. Варьирование условий синтеза приводит к незначительным изменениям относительных эффективностей полярзуемых и сильнополярзуемых анионов (табл. 4), что еще раз подтверждает близкую гидрофильность полученных сорбентов. Наиболее любопытным оказался анионообменник BPEI-GI $\times 10$, для которого наблюдали значительное улучшение симметрии пика хлората при низких абсолютных эффективностях аналитов в режиме ИХ и ГИХ, которые не удалось значительно изменить при повторном синтезе и упаковке данного сорбента. При повышенной ионообменной емкости фазы BPEI-GI $\times 10$ наблюдаемый эффект может быть объяснен увели-

Таблица 4. Изменение эффективности анионообменников относительно хлорида ($N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$) и коэффициенты асимметрии пиков (приведены в скобках) (элюент: 8 мМ раствор КОН для Cl^- , Br^- , NO_3^- , ClO_3^- и 30 мМ раствор КОН для сильнополяризуемых анионов)

Сорбент	N(Cl ⁻), тт/м	Анион					
		Br ⁻	NO ₃ ⁻	ClO ₃ ⁻	I ⁻	SCN ⁻	ClO ₄ ⁻
Влияние количества глицидола							
BPEI-GI ×1	25500	0.8	0.8	0.3	0.2	0.1	0.1
		(1.1)	(1.3)	(2.0)	(1.8)	(1.9)	(2.3)
BPEI-GI ×3	31000	0.9	0.8	0.3	0.3	0.2	0.2
		(1.1)	(1.2)	(1.8)	(1.9)	(1.9)	(2.1)
BPEI-GI ×10	19000	0.8	0.5	0.4	—	—	—
		(0.8)	(1.0)	(1.3)	—	—	—
Влияние температуры синтеза							
BPEI-GI 60°C	31000	0.9	0.8	0.3	0.3	0.2	0.2
		(1.1)	(1.2)	(1.8)	(1.9)	(1.9)	(2.1)
BPEI-GI 70°C	29000	0.9	0.7	0.3	0.2	0.2	0.1
		(1.2)	(1.2)	(1.8)	(1.8)	(3.1)	(2.4)
BPEI-GI 80°C	36000	0.9	0.9	0.5	0.3	0.2	0.1
		(0.8)	(1.1)	(1.6)	(1.3)	(1.9)	(2.1)
Влияние продолжительности синтеза							
BPEI-GI 3 ч	29000	0.9	0.7	0.3	0.2	0.2	0.1
		(1.2)	(1.2)	(1.8)	(1.8)	(3.1)	(2.4)
BPEI-GI 10 ч	34500	0.8	0.7	0.3	0.3	0.2	0.1
		(1.0)	(1.0)	(1.7)	(1.4)	(2.0)	(2.4)
BPEI-GI 24 ч	39000	0.8	0.7	0.5	0.2	0.2	0.1
		(0.9)	(1.0)	(1.7)	(1.4)	(2.0)	(1.7)

чением толщины функционального слоя, что отражается в затруднении массопереноса аналитов.

В целом варьирование условий синтеза оказало наибольшее влияние на ионообменную емкость — увеличение количества глицидола, температуры синтеза и его продолжительности до 10 ч позволило значительно ее повысить. Увеличение температуры синтеза до 80°C позволило повысить гидрофильность и степень экранирования анионообменников в большей степени, чем при увеличении количества глицидола и продолжительности синтеза, что согласуется с данными работы [24]. По эффективности в режиме ИХ и ГИХ наиболее сильно отличается сорбент с десятикратным количеством глицидола, при этом он характеризуется сильным размытием пиков. Таким образом, с точки зрения баланса ионообменной емкости, гидрофильности и эффективно-

сти в качестве оптимальных выбраны следующие условия: трехкратное количество глицидола по сравнению с исходной методикой, температура синтеза 80°C, продолжительность — 10 ч. Тем не менее при варьировании данных параметров преобладающим процессом оставалась кватернизация, а для дополнительного повышения гидрофильности необходимо доминирование процесса полимеризации глицидола. Известно, что глицидол полимеризуется в щелочной среде, поэтому логичным продолжением данной работы в будущем является формирование гидрофильного слоя при повышенном pH реакционной среды.

Селективность неподвижных фаз в режиме ионной хроматографии. На полученных фазах исследовано поведение стандартных неорганических анионов и оксогалогенидов. Изменение условий синтеза по сравнению с сорбентом-прототипом

приводит к росту селективности пары $\text{ClO}_2^-/\text{Cl}^-$, в результате все полученные фазы, кроме $\text{BPEI-GI} \times 1$ и $\text{BPEI-GI} \times 3$, обеспечивают их неполное разделение (рис. 1). Для фаз $\text{BPEI-GI} 10$ ч и $\text{BPEI-GI} 24$ ч разрешение пары $\text{ClO}_2^-/\text{Cl}^-$ достигало 1.3. Также варьирование условий синтеза позволило разделить до базовой линии $\text{NO}_2^-/\text{BrO}_3^-$, что также не удавалось на фазах $\text{BPEI-GI} \times 1$ и $\text{BPEI-GI} \times 3$.

На синтезированных фазах изучали удерживание одно- и двухосновных органических кислот и впервые оксоанионов (рис. 2). Увеличение количества глицидола оказало незначительное влияние на удерживание одноосновных органических кислот, при этом изменение селективностей относительно фторида в основном находится в пределах допустимого отклонения. Для большинства исследуемых двухосновных органических кислот в аналогичном случае наблюдали снижение относительного удерживания (рис. 2б). Так, на сорбенте $\text{BPEI-GI} \times 10$ впервые для ковалентно привитых фаз на основе аминированного ПС-ДВБ удалось элюировать малат, тартрат и сукцинат до сульфата. Значительное уменьшение удерживания почти всех двухосновных органических кислот может быть связано с увеличением объема ионообменных центров, в результате чего объемные анионы, в особенности наиболее гидрофобных и больших органических кислот, удерживаются слабее на сорбентах с такими функциональными группами. При исследовании удерживания оксоанионов (рис. 2в) оказалось, что относительное удерживание селената, селенита и сульфита с увеличением количества глицидола практически не меняется, в то же время наблюдалось увеличение удерживания вольфрамата, тиосульфата, хромата и молибдата. Значительного влияния температуры и продолжительности синтеза на удерживание органических кислот и оксоанионов не выявлено, что, вероятно, свидетельствует о близких структурах их функциональных слоев.

Таким образом, выявлены тенденции в изменении селективности полученных фаз по неорганическим анионам, оксогологенидам и органическим кислотам. Расширена область потенциального применения сорбентов с гидрофилизованным ПЭИ. В частности, впервые изучено поведение оксоанионов на ковалентно привитых сорбентах, а также получен анионообменник, позволяющий элюировать ряд двухосновных органических кислот до сульфата.

Селективность неподвижных фаз в режиме гидрофильной хроматографии. Как отмечено выше, для всех фаз проводили тест Танака в режиме ГИХ. Любые изменения условий синтеза по сравнению с фазой-прототипом $\text{BPEI-GI} \times 1$ приводили к снижению гидроксильной селективности

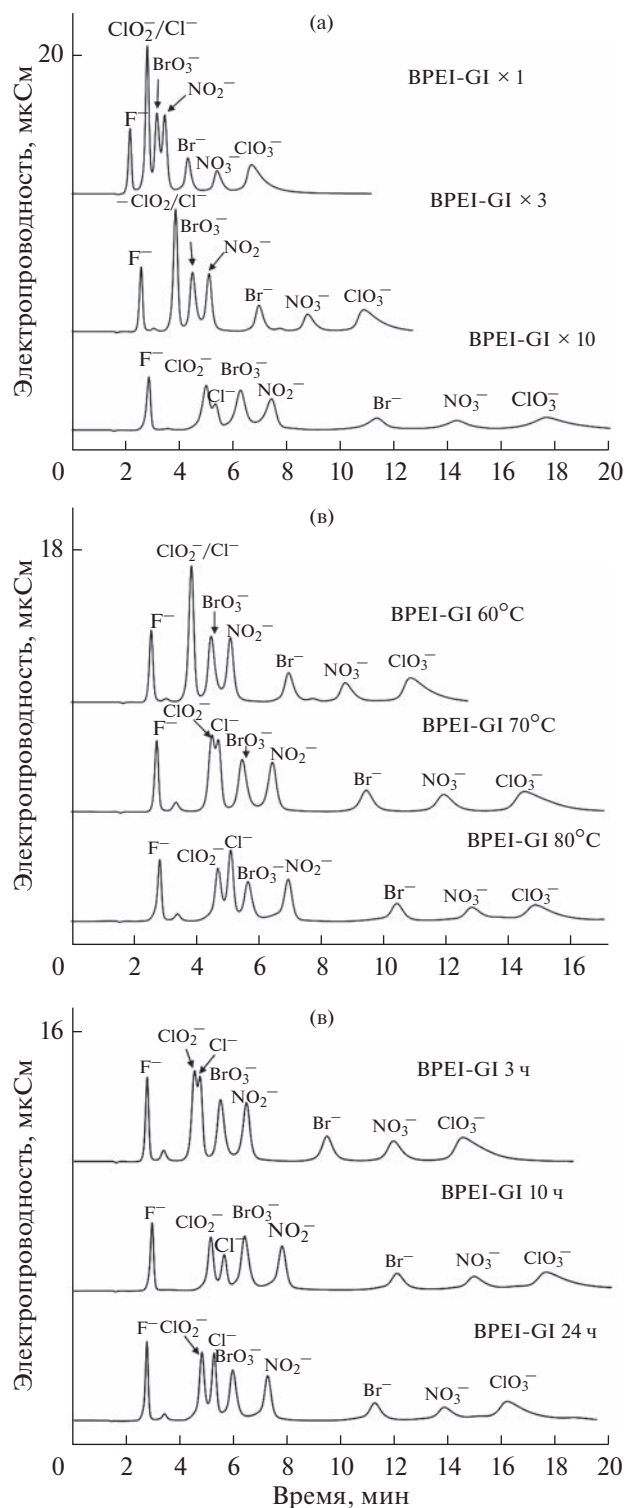


Рис. 1. Хроматограммы смеси стандартных неорганических анионов и оксогологенидов на фазах, полученных при варьировании: (а) — количества глицидола, (б) — температуры синтеза, (в) — продолжительности синтеза. Элюент: 8 мМ раствор КОН. Скорость потока: 1 мл/мин.

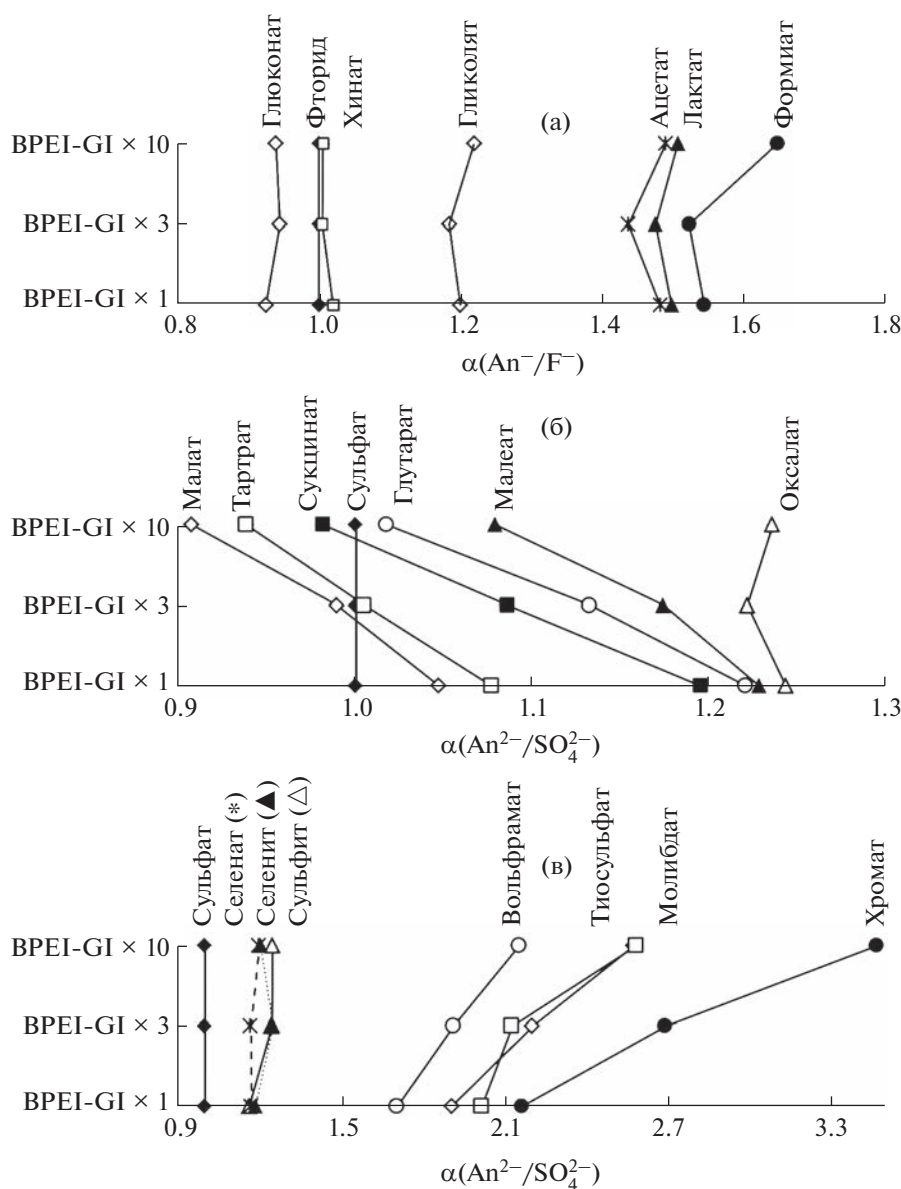


Рис. 2. Селективность по отношению к анионам одно- (а) и двухосновных (б) органических кислот и оксоанионам (в). Элюент: (а): 2 мМ раствор КОН; (б): 8 мМ раствор КОН; (в): BPEI-GI × 1 – 4 мМ раствор КОН, BPEI-GI × 3 – 8 мМ раствор КОН, BPEI-GI × 10 – 10 мМ раствор КОН.

($\alpha(\text{OH})$) (табл. 2). Вероятно, это связано с кватернизацией, увеличением степени замещения аминогрупп ПЭИ и снижением их стерической доступности, в результате чего образуется меньшее число водородных связей между ними и содержащими гидроксильные группы аналитами. При этом фазы, полученные в данной работе, по сравнению с гиперразветвленным сорбентом [25] характеризовались более высокими значениями $\alpha(\text{OH})$. Изменение условий синтеза слабо влияет на метиленовую селективность и селективность по стереоизомерам. Полученные положительно заряженные фазы ожидаемо характеризуются отсут-

ствием катионообменной селективности $\alpha(\text{CX})$. Анионообменную селективность $\alpha(\text{AX})$ обычно оценивают по фактору удерживания гидрофобного аниона *n*-толуолсульфоната. При этом на фазах на основе ароматических матриц его удерживание может определяться не только анионообменными, но и гидрофобными взаимодействиями. Выше показано, что увеличение количества добавленного глицидола, температуры и продолжительности синтеза приводит к росту анионообменной емкости по сравнению с сорбентом BPEI-GI × 1. Тем не менее для всех фаз $\alpha(\text{AX})$ снижается, что говорит об уменьшении удержива-

ния *n*-толуолсульфоната из-за снижения неинообменных взаимодействий с матрицей и о необходимости использования другого маркера в тесте Танака для фаз на основе ПС–ДВБ. Величины $\alpha(Tb/Tr)$ для всех изучаемых фаз меньше единицы, что подтверждает основную природу полученных сорбентов.

Из-за незначительного различия в гидрофильности полученные сорбенты демонстрировали

близкую селективность по отношению к исследуемым классам полярных аналитов. В связи с этим для демонстрации возможности разделения сахаров, аминокислот, водорастворимых витаминов, азотистых оснований и нуклеозидов выбрали фазу ВРЕI-GI $\times 3$ с промежуточным значением $k(U)$. Ниже приведены эффективность (N , тт/м) и асимметрия пиков (As) для колонки ВРЕI-GI $\times 3$ для сахаров (CH_3CN-H_2O (85 : 15, по объему)):

Сахар	Рибоза	Ксилоза	Фруктоза	Глюкоза	Сахароза	Лактоза	Мальтоза
N , тт/м	4500	2000	5000	2000	6500	3000	2500
As	1.0	1.4	1.1	1.7	1.3	1.4	1.4

аминокислот (CH_3CN –5 мМ фосфатный буферный раствор (85 : 15, по объему)):

Аминокислота	Leu	Ile	Val	Met	Phe	Tyr	Thr	Asn	Gln	Ala	Ser
N , тт/м	9500	10000	10500	9000	6500	8000	9500	10500	11000	13000	10500
As	1.0	1.0	1.0	1.1	1.4	1.0	1.3	0.9	0.9	0.9	1.0

витаминов (CH_3CN –100 мМ аммонийно-формиатный буферный раствор с pH 3.0 (93 : 7, по объему, для B1, никотинамида, B6 и B2; 70 : 30, по объему, для B12, C и никотиновой кислоты)):

Витамин	B1	Никотинамид	B6	B2	B12	C	Никотиновая кислота
N , тт/м	9000	11000	11500	7000	7500	19500	15000
As	1.0	0.9	1.1	1.1	1.2	1.1	0.9

и азотистых оснований и нуклеозидов (CH_3CN –20 мМ аммонийно-формиатный буферный раствор с pH 3.0 (90 : 10, по объему)):

Азотистое основание или нуклеозид	Урацил	Уридин	Аденозин	Цитозин	Ксантин	Цитидин	Гуанин	Гуанозин
N , тт/м	13000	9500	10000	12500	10500	9000	11000	8500
As	1.1	1.0	1.0	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9

Скорость потока подвижных фаз 1 мл/мин.

Сорбент ВРЕI-GI $\times 3$ обеспечил разделение четырех сахаров за 10 мин с эффективностью до 6500 тт/м, а также продемонстрировал неполное разрешение пар фруктоза/ксилоза и сахароза/лактоза (рис. 3а). Стоит отметить, что на дан-

ной фазе наблюдается раздвоение пика глюкозы, что может быть связано с аномальной селективностью. Возможность разделения слабоудерживаемых сахаров свидетельствует о высокой степени гидрофилизации фазы. Тем не менее данный сорбент характеризовался меньшей эффективно-

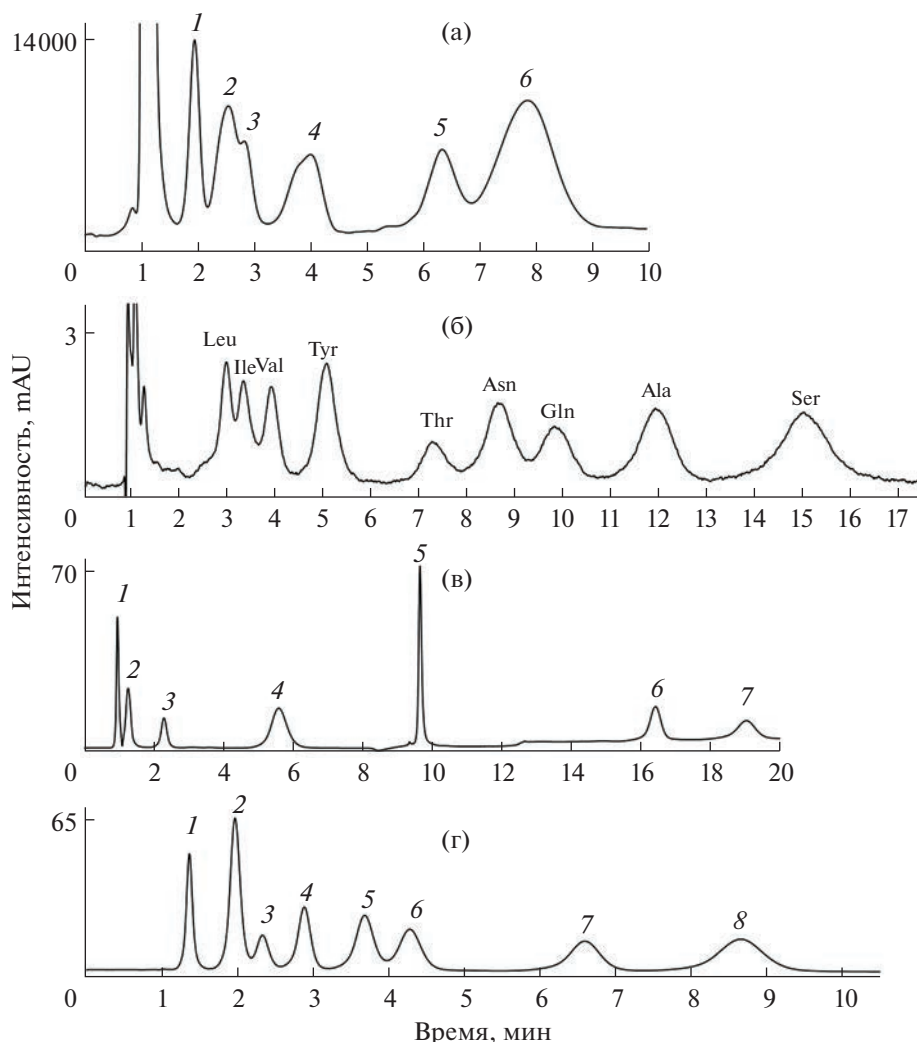


Рис. 3. Хроматограммы модельных смесей на сорбенте BPEI-G1 $\times$ 3: (а) – сахаров, (б) – аминокислот, (в) – витаминов, (г) – азотистых оснований и нуклеозидов. Условия: (а): элюент: $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$ (85 : 15, по объему); скорость потока: 0.9 мл/мин; рефрактометрическое детектирование. 1 – рибоза, 2 – ксилоза, 3 – фруктоза, 4 – глюкоза, 5 – сахароза, 6 – лактоза. (б): Элюент: $\text{CH}_3\text{CN}-5$ мМ фосфатный буферный раствор (85 : 15, по объему); скорость потока: 1 мл/мин; УФ-детектирование при 210 нм. (в): Элюент: $\text{CH}_3\text{CN}-100$ мМ аммонийно-формиатный буферный раствор с pH 3.0; градиентное элюирование: 0–6.8 мин – 7% буферного раствора, 6.8–8.8 мин – 7–28% буферного раствора, 11–14 мин – 28–38% буферного раствора; скорость потока: 1 мл/мин, УФ-детектирование при 270 нм; 1 – В₁, 2 – никотинамид, 3 – В₆, 4 – В₂, 5 – В₁₂, 6 – С, 7 – никотиновая кислота. (г): Элюент: $\text{CH}_3\text{CN}-20$ мМ аммонийно-формиатный буферный раствор с pH 3.0 (90 : 10, по объему); скорость потока: 1 мл/мин; УФ-детектирование при 254 нм; 1 – урацил, 2 – уридин, 3 – аденозин, 4 – цитозин, 5 – ксантин, 6 – цитидин, 7 – гуанин, 8 – гуанозин.

стью по сахарам, чем сорбент, описанный в работе [25] и позволяющий разделить пять сахаров за 8 мин с эффективностью до 9000 тт/м.

Сорбент BPEI-G1 $\times$ 3 также обеспечил разделение до базовой линии восьми аминокислот, представляющих полярные цвиттер-ионные аналиты, за 17 мин с эффективностью до 13000 тт/м и высокой симметрией пиков, а также неполное разделение пар изолейцин/лейцин и валин/изолейцин (рис. 3б). Интересно отметить, что для наиболее гидрофобных аминокислот (треонин и фенилаланин) наблюдали достаточно низкую симметрию

пиков и наименьшую эффективность, а также порядок элюирования, нехарактерный для гидрофильных фаз на основе силикагеля [38–40]. Это может быть связано с влиянием гидрофобной матрицы, несмотря на ее экранирование и гидрофилизацию поверхности кватернизованным полиамином. Данный сорбент обеспечил экспрессное разделение аминокислот, так как характеризуется большей селективностью по отношению к ним по сравнению с фазой, исследованной в работе [25] и обеспечивающей разделение всего шести аминокислот за 60 мин.

Подобраны также условия разделения шести водорастворимых витаминов на сорбенте ВРЕI-GI $\times 3$ за 20 мин в градиентном режиме (рис. 3в). Эффективность варьировалась в пределах от 7000 до 19500 тт/м (для рибофлавина и аскорбиновой кислоты соответственно). Положительно заряженный тиамин предсказуемо не удерживается на данной фазе, что говорит о невозможности ее использования для его определения. Сорбент из работы [25] обеспечивает разделение этих же витаминов лишь за 40 мин, а также характеризуется меньшими эффективностями практически по всем исследуемым витаминам.

Фаза ВРЕI-GI $\times 3$ позволила также экспрессно разделить восемь нуклеозидов и азотистых оснований всего за 10 мин (рис. 3г) с эффективностью от 8500 до 13000 тт/м. Нуклеозиды удерживаются дольше соответствующих им азотистых оснований, что также свидетельствует о повышенной гидрофильности сорбента.

Таким образом, впервые продемонстрирована возможность применения сорбентов с гидрофилизованным полиэтиленимином в режиме ГИХ для разделения широкого круга полярных аналитов. По сравнению с гиперразветвленной фазой, полученной на такой же матрице в работе [25], данный сорбент обеспечивает более экспрессное и эффективное разделение аминокислот и витаминов, однако из-за аномерной селективности не подходит для эффективного разделения сахаров. Для улучшения хроматографических параметров фаз с привитым полимером в режиме ИХ с подавлением и ГИХ необходим поиск способов снижения гидрофобных взаимодействий аналитов с матрицей. Предположительно, дополнительное повышение гидрофильности может быть обеспечено за счет доминирования процесса полимеризации глицидола над кватернизацией, например, при повышении рН реакционной среды.

* * *

Получены сорбенты на основе ПС-ДВБ с привитым ПЭИ, кватернизованным глицидолом, для ИХ и ГИХ. Изучено влияние на емкость, селективность и эффективность сорбентов условий синтеза (количества добавленного глицидола, температуры, продолжительности синтеза). Варьирование условий синтеза позволяет управлять емкостью и селективностью анионообменников, при этом гидрофильность фаз меняется незначительно. В режиме ИХ изучено поведение стандартных неорганических анионов, оксоалогенидов, анионов органических кислот, оксоанионов, а также сильнополярizuемых анионов на полученных сорбентах. Впервые продемонстрирована применимость фаз такого типа для разделения сахаров, аминокислот, водорастворимых витами-

нов, а также нуклеозидов и азотистых оснований в режиме ГИХ.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 20-13-00140, с использованием оборудования ЦКП МГУ "Технологии получения новых наноструктурированных материалов и их комплексное исследование", приобретенного МГУ по программе обновления приборной базы в рамках национального проекта "Наука" и в рамках Программы развития МГУ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Weiss J. Handbook of Ion Chromatography. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2016. 1576 p. <https://doi.org/10.1002/9783527651610>
2. Ztirakha A.V., Smolenkov A.D., Shpigun O.A. Preparation and chromatographic performance of polymer-based anion exchangers for ion chromatography: A review // Anal. Chim. Acta. 2016. V. 904. P. 33. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.11.012>
3. Pohl C. Stationary phases and suppressors in ion chromatography, 1975–2000 / Ion Chromatography: Instrumentation, Techniques and Applications. Academic Press, 2021. Ch. 2. P. 15. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813075-9.00005-4>
4. Pohl C. Stationary phases in ion chromatography / Ion Chromatography: Instrumentation, Techniques and Applications. Academic Press, 2021. Ch. 3. P. 43. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813075-9.00006-6>
5. Liu X., Wang Y., Cong H., Shen Y., Yu B. A review of the design of packing materials for ion chromatography // J. Chromatogr. A. 2021. V. 1653. Article 462313. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462313>
6. Uzhel A.S., Borodina A.N., Gorbovskaia A.V., Shpigun O.A., Ztirakha A.V. Determination of full organic acid profiles in fruit juices and alcoholic beverages using novel chemically derivatized hyperbranched anion exchanger // J. Food Compos. Anal. 2021. V. 95. Article 103674. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103674>
7. Uzhel A.S., Ztirakha A.V., Smolenkov A.D., Shpigun O.A. Quantification of inorganic anions and organic acids in apple and orange juices using novel covalently-bonded hyperbranched anion exchanger with improved selectivity // J. Chromatogr. A. 2018. V. 1567. P. 130. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.06.065>
8. Liu J., Wang Y., Cheng H., Wang N., Wu S., Zhang P., Zhu Y. High-capacity anion exchangers based on poly (glycidylmethacrylate-divinylbenzene) microspheres for ion chromatography // Talanta. 2016. V. 159. P. 272. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.06.034>
9. Ztirakha A.V., Smolenkov A.D., Pirogov A.V., Nesterenko P.N., Shpigun O.A. Preparation and characterisation of anion exchangers with dihydroxy-containing alkyl substitutes in the quaternary ammonium functional groups // J. Chromatogr. A. 2014. V. 1323. P. 104. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.11.013>
10. Shchukina O.I., Ztirakha A.V., Smolenkov A.D., Nesterenko P.N., Shpigun O.A. Anion exchangers with branched functional ion exchange layers of differ-

- ent hydrophilicity for ion chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2015. V. 1408. P. 78.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.06.039>
11. Шукина О.И., Затираха А.В., Смоленков А.Д., Шпигун О.А. Использование эпихлоргидрина для одновременного повышения гидрофильности и пространственного удаления функциональных групп анионообменников для ионной хроматографии // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2014. Т. 55. С. 219. (Shchukina O.I., Ztirakha A.V., Smolenkov A.D., Shpigun O.A. Using of epichlorohydrin for simultaneous increase of functional groups hydrophilicity and their spatial moving away from the matrix of anion exchangers for ion chromatography // *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2014. V. 69. P. 168.)
 12. Затираха А.В., Смоленков А.Д., Шпигун О.А. Синтез новых полимерных анионообменников с использованием реакции нитрования // Сорбционные и хроматографические процессы. 2011. Т. 11. С. 473.
 13. Shchukina O.I., Ztirakha A.V., Smolenkov A.D., Nesterenko P.N., Shpigun O.A. Novel anion exchangers with spatially distant trimethylammonium groups in linear and branched hydrophilic functional layers // *Chromatographia*. 2015. V. 78. P. 147.
<https://doi.org/10.1007/s10337-014-2831-5>
 14. Uzhel A.S., Ztirakha A.V., Shchukina O.I., Smolenkov A.D., Shpigun O.A. Covalently-bonded hyperbranched poly(styrene-divinylbenzene)-based anion exchangers for ion chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2016. V. 1470. P. 97.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.10.009>
 15. Uzhel A.S., Ztirakha A.V., Smirnov K.N., Smolenkov A.D., Shpigun O.A. Anion exchangers with negatively charged functionalities in hyperbranched ion-exchange layers for ion chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2017. V. 1482. P. 57.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.12.066>
 16. Zhang K., Lou C., Zhu Y., Zhi M., Zeng X., Shou D. Covalently grafted anion exchangers with linear epoxy-amine functionalities for high-performance ion chromatography // *Talanta*. 2019. V. 194. P. 485.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.10.062>
 17. Shchukina O.I., Ztirakha A.V., Uzhel A.S., Smolenkov A.D., Shpigun O.A. Novel polymer-based anion-exchangers with covalently-bonded functional layers of quaternized polyethyleneimine for ion chromatography // *Anal. Chim. Acta*. 2017. V. 964. P. 187.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.01.062>
 18. Yang Z., Li Z., Zhang F., Yang B., Zhang S. A novel hydrophilic polymer-based anion exchanger grafted by quaternized polyethyleneimine for ion chromatography // *Talanta*. 2019. V. 197. P. 199.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.01.024>
 19. Wilms D., Stiriba S.-E., Frey H. Hyperbranched polyglycerols: From the controlled synthesis of biocompatible polyether polyols to multipurpose applications // *Acc. Chem. Res.* 2010. V. 43. P. 129.
<https://doi.org/10.1021/ar900158p>
 20. Ardila-Suárez C., Rojas-Avellaneda D., Ramirez-Caballero G.E. Effect of temperature and catalyst concentration on polyglycerol during synthesis // *Int. J. Polym. Sci.* 2015. P. 1.
<https://doi.org/10.1155/2015/910249>
 21. Geng H., Jing J., Zhang F.F., Zhang, F., Yang, B. (2020). A polar stationary phase obtained by surface-initiated polymerization of hyperbranched polyglycerol onto silica // *Talanta*. V. 209. Article 120525.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120525>
 22. Li H., Zhang X., Zhang L., Cang H., Kong F., Fan D., Wang W. Hyperbranched polyglycerol functionalized silica stationary phase for hydrophilic interaction liquid chromatography // *Anal. Sci.* 2018. V. 34. P. 433.
<https://doi.org/10.2116/analsci.17P486>
 23. Geng H., Wang Z., Zhang F.F., Li Z., Yang B. A hyperbranched polyglycerol-functionalized polymer polar stationary phase // *J. Chromatogr. A*. 2022. V. 1670. Article 462946.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.462946>
 24. Pohl C.A. Novel method for manipulation of anion-exchange selectivity by derivatizing hydroxyl groups in the proximity of quaternary nitrogen ion-exchange sites with glycidol // *Talanta*. 2018. V. 177. P. 18.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.09.042>
 25. Popov A.S., Spiridonov K.A., Uzhel A.S., Smolenkov A.D., Chernobrovkina A.V., Ztirakha, A.V. Prospects of using hyperbranched stationary phase based on poly(styrene-divinylbenzene) in mixed-mode chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2021. V. 1642. Article 462010.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462010>
 26. Uzhel A.S., Gorbovskaia A.V., Ztirakha A.V., Smolenkov A.D., Shpigun O.A. Manipulating selectivity of covalently-bonded hyperbranched anion exchangers toward organic acids. Part II: Effect of mono- and dicarboxylic amino acids in the internal part of the functional layer // *J. Chromatogr. A*. 2019. V. 1596. P. 117.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.03.006>
 27. Uzhel A.S., Gorbovskaia A.V., Ztirakha A.V., Smolenkov A.D., Shpigun O.A. Manipulating selectivity of covalently-bonded hyperbranched anion exchangers toward organic acids. Part I: Influence of primary amine substituents in the internal part of the functional layer // *J. Chromatogr. A*. 2019. V. 1589. P. 65.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.12.052>
 28. Uzhel A.S., Ztirakha A.V., Smolenkov A.D., Shpigun O.A. Manipulating selectivity of covalently-bonded hyperbranched anion exchangers toward organic acids. Part III: Effect of diamine structure in the external part of the functional layer // *J. Chromatogr. A*. 2019. V. 1602. P. 310.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.05.052>
 29. Uzhel A.S., Gorbovskaia A.V., Ztirakha A.V., Smolenkov A.D., Shpigun O.A. Manipulating selectivity of covalently-bonded hyperbranched anion exchangers toward organic acids. Part IV: General algorithm based on the variation of external part of the functional layer // *J. Chromatogr. A*. 2020. V. 1634. Article 461648.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461648>
 30. Kawachi Y., Ikegami T., Takubo H., Ikegami Y., Miyamoto M., Tanaka N. Chromatographic characterization of hydrophilic interaction liquid chromatography stationary phases: Hydrophilicity, charge effects, structural selectivity, and separation efficiency // *J. Chromatogr. A*. 2011. V. 1218. P. 5903.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.06.048>

31. *Chen J., Peng H., Zhang Z., Zhang Z., Ni R., Chen Y., Chen P., Peng J.* Facile fabrication of silica@covalent organic polymers core-shell composites as the mixed-mode stationary phase for hydrophilic interaction/reversed-phase/ion-exchange chromatography // *Talanta*. 2021. V. 233. Article 122524. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122524>
32. *Liang C., Lucy C.A.* Characterization of ion chromatography columns based on hydrophobicity and hydroxide eluent strength // *J. Chromatogr. A*. 2010. V. 1217. P. 8154. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.10.065>
33. *Nesterenko P.N., Nesterenko E.P.* Hydrophobicity of polymer based anion-exchange columns for ion chromatography // *Heliyon*. 2021. V. 7. Article e07290. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07290>
34. *Pohl C., Saini C.* New developments in the preparation of anion exchange media based on hyperbranched condensation polymers // *J. Chromatogr. A*. 2008. V. 1213. P. 37. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.10.072>
35. *Pohl C.A., Stillian J.R., Jackson P.E.* Factors controlling ion-exchange selectivity in suppressed ion chromatography // *J. Chromatogr. A*. 1997. V. 789. P. 29. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00705-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00705-X)
36. *Pohl C.A., Srinivasan K.* Electrostatically attached highly branched anion-exchange phases derived from diamines and diepoxides // *Talanta*. 2018. V. 184. P. 338. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.02.106>
37. *Коваленко И.В.* Влияние структуры спейсера и цвиттер-иона на свойства новых цвиттер-ионных сорбентов для гидрофильной хроматографии // Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых “Ломоносов-2021”, секция “Химия”. Москва. МГУ им. М.В. Ломоносова. 12–23 апреля, 2021. С. 42.
38. *Чикурова Н.Ю., Шемякина А.О., Брыскина Д.Э., Нуриев В.Н., Комаров А.А., Статкус М.А., Ставрианиди А.Н., Чернобровкина А.В.* Новый сорбент для гидрофильной хроматографии на основе силикагеля, модифицированного по реакции Уги // *Журн. аналит. химии*. 2021. Т. 76. С. 832. <https://doi.org/10.31857/s0044450221090036> (*Chikurova N.Yu., Shemyakina A.O., Bryskina D.E., Nuriev V.N., Komarov A.A., Statkus M.A., Stavriani A.N., Chernobrovkina A.V.* A Novel adsorbent for hydrophilic chromatography based on silica modified by the Ugi reaction // *J. Anal. Chem*. 2021. V. 76. P. 1083.)
39. *Fan F., Wang L., Li Y., Wang X., Lu X., Guo Y.* A novel process for the preparation of Cys-Si-NIPAM as a stationary phase of hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) // *Talanta*. 2020. V. 218. Article 121154. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121154>
40. *Chikurova N.Yu., Shemiakina A.O., Shpigun O.A., Chernobrovkina A.V.* Multicomponent Ugi reaction as a tool for fast and easy preparation of stationary phases for hydrophilic interaction liquid chromatography. Part I: The influence of attachment and spacing of the functional ligand obtained via the Ugi reaction // *J. Chromatogr. A*. 2022. V. 1666. Article 462804. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.462804>

УДК 543.544.35:543.421:543.51

ОСОБЕННОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭФИРОВ КСАНТОФИЛЛОВ В УСЛОВИЯХ ОБРАЩЕННО-ФАЗОВОЙ ВЭЖХ

© 2023 г. В. И. Дейнека^а*, Т. Г. Буржинская^а, И. П. Блинова^а, Л. А. Дейнека^а

^аБелгородский государственный национальный исследовательский университет,
Институт фармации, химии и биологии
ул. Победы, 85, Белгород, 308015 Россия

*e-mail: deineka@bsu.edu.ru

Поступила в редакцию 12.01.2023 г.

После доработки 17.01.2023 г.

Принята к публикации 18.01.2023 г.

Исследованы особенности хроматографического определения эфиров ксантофиллов на примере диэфиров лютеина цветков бархатцев в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ. Разработанный двух-колоночный метод позволил установить, что в пробах с низкой растворимостью каротиноидов в использованном растворителе и на хроматографической колонке при применении подвижной фазы с низкой растворимостью каротиноидов возможно выпадение осадка диэфиров, нарушающее правильность хроматографического определения. Критическим фактором при этом является температура: хранение проб (растворов) в холодильнике не всегда целесообразно — возможно вымораживание основных компонентов. Показано, что использование подвижной фазы, содержащей от 0 до 10 об. % ацетонитрила в ацетоне при температуре не ниже 20°C допустимо для разделения диэфиров полностью *транс*-лютеина от *цис*-производных лютеина и производных зеаксантина на “мономерных” C18-фазах.

Ключевые слова: эфиры ксантофиллов, обращенно-фазовая ВЭЖХ, влияние состава растворителя пробы, влияние состава подвижной фазы, влияние температуры, двухколоночный способ, правильность хроматографического определения.

DOI: 10.31857/S0044450223060026, **EDN:** DWNANX

По типу функциональных групп каротиноиды разделяют на каротины, включающие углеводороды и их эпоксиды, и ксантофиллы, содержащие ОН-группы (или кетогруппы). Ксантофиллы в природных источниках чаще всего этерифицируются несколькими различными высшими жирными кислотами [1]. Это существенно осложняет разделение индивидуальных каротиноидов методом обращенно-фазовой ВЭЖХ [2], поэтому обычная практика — омыление эфиров ксантофиллов перед последующим определением [3, 4].

Среди экономически важных источников эфиров ксантофиллов можно выделить растения рода *Tagetes* (бархатцы) с оранжевой окраской лепестков цветков [5, 6]. Ксантофиллы (главным образом лютеин) этого растения используют в фармации для предупреждения возрастной макулярной дистрофии, в кормлении птиц, как пищевую добавку и как красители для пищевой промышленности [5]. Уникальность лепестков цветков бархатцев состоит в биосинтезе диэфиров лютеина с высокой концентрацией. Описано несколько примеров применения обращенно-фазовой ВЭЖХ [6–11] для контроля ксантофиллов в

высушенных лепестках цветков бархатцев, хотя более обстоятельное исследование каротиноидов бархатцев представлено в работе [12]. Дополнительная информация о составе диэфиров лютеина получена с использованием вместо “мономерной” C18 “полимерной” C30 стационарной фазы [13, 14]. Однако целый ряд вопросов, связанных с хроматографическим определением диэфиров ксантофиллов, остается неисследованным. Это стало особенно важным после публикации работы [15], в которой установлено, что между результатами ВЭЖХ-определения каротиноидов на ряде коммерческих хроматографических колонок и количеством введенного образца может быть несоответствие, причины которого остались невыясненными.

Несоответствия, отмеченные в работе [15], стимулировали проведение настоящего исследования хроматографического поведения эфиров ксантофиллов в условиях обращенно-фазовой хроматографии с оценкой степени открытия (отношения количества найденного вещества к количеству вещества, введенного на колонку) каро-

тиноидов по разработанному в данной работе двухколоночному способу.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Использовали экстракты бархатцев (*Tagetes erecta*), физалиса декоративного (*Physalis alkekengi*) и плодов рябины (*Sorbus aucuparia*), выращенных в Белгороде в 2022 г. Лепестки бархатцев, пузыревидно-вздутую при плодах чашечку физалиса и плоды рябины высушивали без доступа прямого солнечного света. Экстракцию осуществляли растиранием растительного материала под слоем экстрагента (аcetона) в фарфоровой ступке до обесцвечивания последней порции экстрагента, все порции экстракта смешивали в мерной посуде и доводили до метки ацетоном.

Для определения концентрации диэфиров ксантофиллов использовали спектрофотометр Shimadzu UV-VIS с кварцевыми кюветами. После соответствующего разбавления фильтрата ацетоном его пропускали через насадочный фильтр с диаметром пор 0.2 мкм. Для расчета использовали коэффициент молярного поглощения $144500 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ при 456 нм [16]. Установили, что линейная зависимость между концентрацией каротиноидов и оптической плотностью растворов сохраняется, по крайней мере, в диапазоне оптических плотностей от 0.1 до 1.1.

Для хроматографического разделения использовали экстракты, разбавленные ацетоном до концентрации не более $1.5 \times 10^{-4} \text{ М}$ по основному ксантофиллу. Такие экстракты могут храниться при температуре не ниже 20°C до 3 дней в темном месте. Хранения в холодильнике следует избегать.

Для разделения использовали хроматографические колонки $4.6 \times 250 \text{ мм}$ Kromasil 100-5C18, $4.6 \times 250 \text{ мм}$ Kromasil 150-5C18, $4.6 \times 100 \text{ мм}$ Kromasil 100-5C18 и защитную колонку Kromasil C18 с использованием хроматографа Agilent 1200 Infinity с диодно-матричным детектором. Хроматограммы регистрировали при 445 нм, хранили и обрабатывали в ПО Agilent ChemStation.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При определении эфиров ксантофиллов в экстрактах лепестков бархатцев желательно разделить производные лютеина и зеаксантина, поскольку для профилактики возрастной макулярной дистрофии необходимы не только производные лютеина, но и зеаксантина [17]. Определение диэфиров зеаксантина (ЭЗ) на фоне диэфиров лютеина (ЭЛ) непростая задача, поскольку ЭЛ могут присутствовать не только в форме производных полностью *транс*-лютеина, но и в форме позднее элюирующейся на “мономерных” C18-стационарных фа-

зах (как и ЭЗ) смеси *цис*-изомеров. Однако по нашему опыту в свежеприготовленных образцах содержание *цис*-изомеров заметно меньше содержания ЭЗ, что подтверждается электронными спектрами поглощения соответствующих хроматографических пиков. Следовательно, для приблизительной оценки уровня накопления производных зеаксантина можно использовать площадь пиков, элюирующихся сразу после пиков, соответствующих полностью *транс*-изомерам ЭЛ. При этом необходимо отделение производных зеаксантина от производных лютеина, в структуре которых один из радикалов относится к ненасыщенным кислотам [12]. Известно, что удерживание триацилглицеринов уменьшается при замене радикала пальмитиновой кислоты на олеиновую [18]. По аналогии эфир алкилоктадеценоат полностью *транс*-изомера лютеина будет элюироваться до соответствующего алкилпальмитата.

Для управления разделением сложных смесей при заданной “мономерной” стационарной C18-фазе можно использовать изменение типа органических компонентов подвижной фазы, их концентрации или температуры. В работе [19] изменением компонентов подвижной фазы удалось избежать наложения пиков диэфиров капсантина, имеющего в структуре одну карбонильную группу, и капсорубина с двумя карбонильными группами в молекуле.

Влияние типа компонентов подвижной фазы. Как экстрагент, так и подвижная фаза для разделения каротиноидов должны хорошо растворять эти соединения. В ацетонитриле и метаноле (компонент 1, K1), как в наиболее часто используемых компонентах подвижных фаз, растворимость β -каротина одинаковая и достаточно невысокая – 10 мг/л [16]. В связи с этим подвижная фаза должна содержать в качестве основного компонента (K2) растворитель с более высокой растворимостью каротиноидов в нем, и число таких растворителей из перечня обычно используемых в ВЭЖХ ограничено [16]. На рис. 1 представлены хроматограммы экстракта бархатцев в четырех типах элюентов, содержащих ацетонитрил (K1) и четыре различных компонента (K2), концентрации которых (на основе предварительных исследований) подбирали так, чтобы удерживание основных диэфиров было близким для всех четырех вариантов. Как видно, во всех хроматографических системах наблюдается один и тот же порядок элюирования диэфиров лютеина. Удерживание ЭЛ возрастает с ростом числа атомов углерода (ΣNC) в двух радикалах жирных кислот, поскольку возрастает сродство к ним стационарной C18-фазы. После каждого производного полностью *транс*-лютеина (например, 5 на рис. 1) появляется смесь (5a), содержащая полностью *транс*-зеаксантин и сумму *цис*-изомеров лютеина с аналогичной ΣNC . За ними, если это возможно,

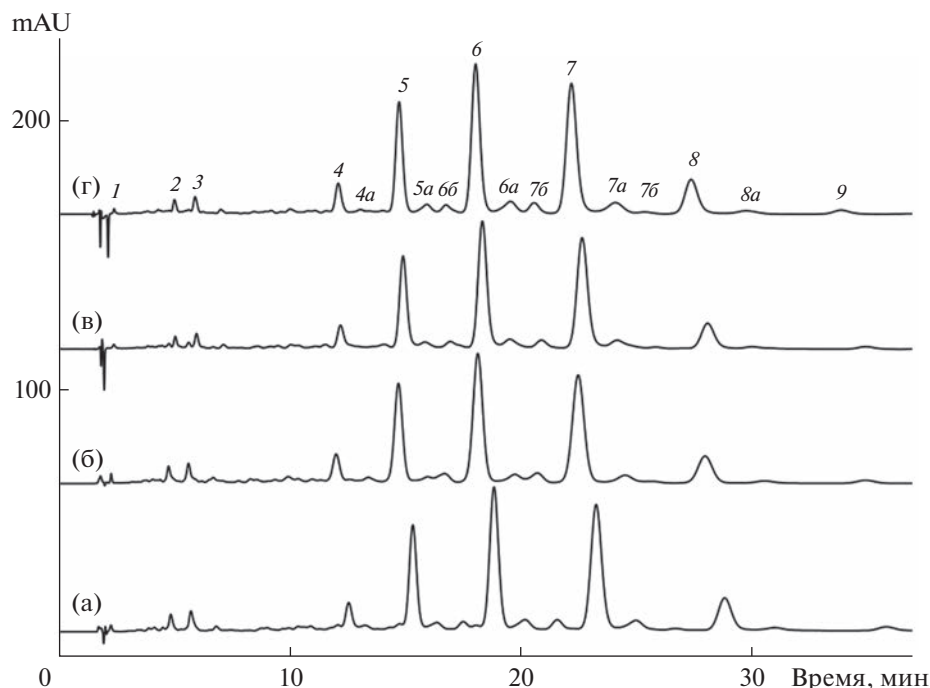


Рис. 1. Разделение каротиноидов экстракта цветков бархатцев в четырех типах элюентов: (а) — 70 об. % ацетона и 30 об. % ацетонитрила; (б) — 52 об. % пропанола-2 и 48 об. % ацетонитрила; (в) — 49 об. % этилацетата и 51 об. % ацетонитрила; (г) — 34 об. % метил-*трет*-бутилового эфира и 56 об. % ацетонитрила, 0.8 мл/мин. Колонка: 150 × 4.6 мм Kromasil 100-5C18, 30°C. Вещества: 1 — лютеин, 2 и 3 — по два региоизомера миристана и пальмитата лютеина; диэфиры лютеина: 4 — лаурат-миристан, 5 — димиристан, 6 — миристан-пальмитат, 7 — дипальмитат, 8 — пальмитат-стеарат, 9 — дистеарат; буквой *a* обозначены соответствующие производные зеаксантина, буквой *б* — эфиры, содержащие радикалы октадеценовой кислоты.

следует диэфир полностью-*транс*-лютеина (6б), в котором пальмитоильный радикал замещен на октадецильный (предположительно, радикал олеиновой кислоты) с $\Sigma N(C + 2)$.

Одинаковый порядок элюирования в случае четырех различных добавок к ацетонитрилу в подвижной фазе неудивителен, поскольку производные лютеина и зеаксантина являются изомерами с одинаковым набором функциональных групп. Следовательно, для рассматриваемого случая ацетон, изопропанол, этилацетат и метил-*трет*-бутиловый эфир обладают примерно одинаковой селективностью.

Влияние концентрации органического модификатора подвижной фазы. С ростом концентрации К2 в подвижной фазе удерживание аналитов уменьшается тем сильнее, чем больше число дисперсионных взаимодействий (или число атомов углерода и водорода) между сорбатом и компонентами подвижной фазы. При этом степень разделения пар диэфиров типа 5а и 6б будет уменьшаться, что подтверждается экспериментально (рис. 2).

Данные рис. 2 свидетельствуют о том, что чем ниже в подвижной фазе концентрация К2, тем лучше разделяются компоненты смеси. Однако

снижение концентрации К2 связано с другой проблемой — со снижением растворимости каротиноидов в подвижной фазе.

Влияние растворителя пробы на вид хроматограммы. В работе [20] показано, что при разделении антоцианов концентрация ацетонитрила в растворителе пробы может привести к артефактам, искажающим хроматограмму. Для проверки влияния растворителя пробы на разделение каротиноидов приготовили два образца с одинаковой концентрацией каротиноидов, но при использовании в первой пробе в качестве растворителя ацетона (П1), а во второй — смеси ацетона (70 об. %) с ацетонитрилом (П2). При регистрации в день приготовления хроматограммы обеих проб были практически идентичными, что указывало на возможность использования образцов в растворителе с большей растворяющей способностью, что удобно при пробоподготовке. Однако на второй день различия оказались значительными (рис. 3). На хроматограмме П2 площади пиков уменьшались (относительно площадей пиков для П1) с ростом удерживания диэфиров, т.е. со снижением их растворимости в растворителе пробы: от ~80% для лаурата-миристана и димиристана лютеина до ~50, ~40 и ~30% для дипальмитата, пальмитата-стеарата и дистеарата лютеина соответственно.

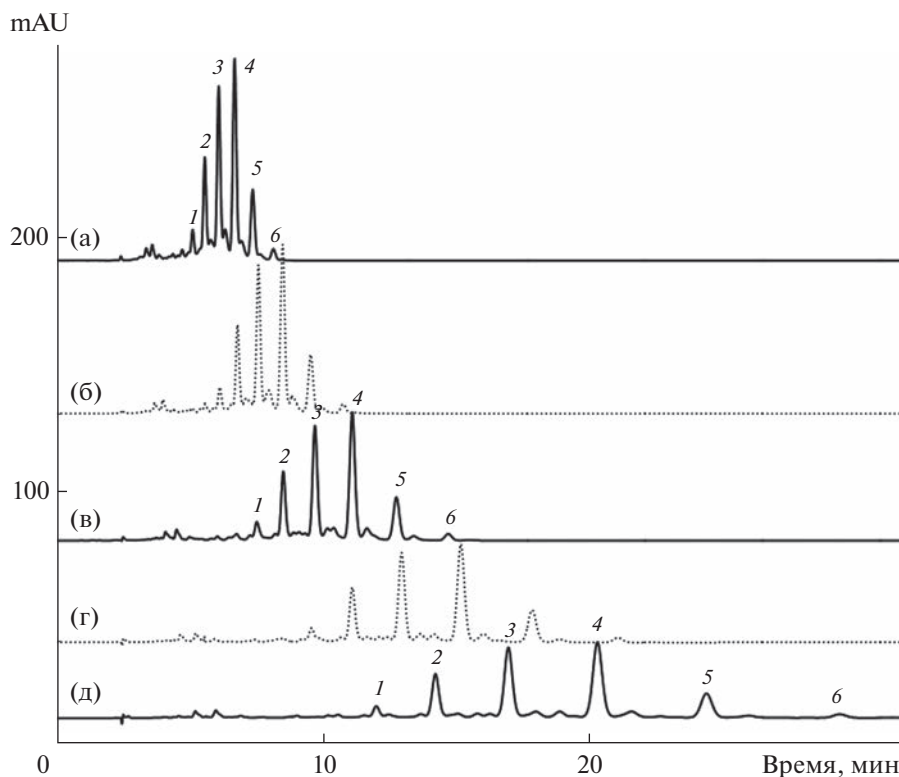


Рис. 2. Разделение каротиноидов экстракта цветков бархатцев в четырех подвижных фазах состава ацетон–ацетонитрил, содержащих: (а) – 100 об. % ацетона; (б) – 95 об. % ацетона; (в) – 90 об. % ацетона; (г) – 85 об. % ацетона; (д) – 80 об. % ацетона, 0.8 мл/мин. Колонка: 250 × 4.6 мм Кромасил 100-5С18 с предколонкой Кромасил С18, 30°C. Эфиры лютеина: 1 – лаурат-миристат, 2 – димиристат, 3 – миристат-пальмитат, 4 – дипальмитат, 5 – пальмитат-стеарат, 6 – дистеарат.

Причина этого явления стала понятна после обнаружения на дне емкости, содержащей вторую пробу, осадка.

Следовательно, важнейшей причиной появления артефактов при хроматографировании каротиноидов может быть их недостаточная растворимость как в растворителе пробы, так и в подвижной фазе.

При недостаточной растворимости каротиноидов в растворителе пробы образуется осадок. При хранении растворов при пониженных температурах растворимость падает, т.е. к хранению растворов проб в холодильнике следует относиться с осторожностью.

Недостаточная растворимость каротиноидов в подвижной фазе, по нашему опыту, также может быть обнаружена по изменению значений давления в процессе хроматографирования: при спонтанной кристаллизации компонентов в процессе хроматографирования наблюдается постепенный рост давления со скачками. При исследовании растворов антоцианов [21] наблюдали образование осадков даже в элюентах с высокой элюирующей способностью. Дело в том, что при хроматографировании происходит разделение суммы веществ (например, диэфиров) на индивидуальные компо-

ненты, и вероятность кристаллизации возрастает, возрастает также температура плавления.

Двухколоночный способ контроля хроматографических процессов. Особенность хроматографического определения смеси веществ даже при наличии стандартных образцов состоит в том, что мы заранее не знаем, какой должна быть хроматограмма (по площадям пиков). Проблема легко решается, если воспользоваться следующим способом. Несколько раз (например, три раза) записываем хроматограмму при использовании колонки № 1, находим средние значения площадей пиков и их суммы. Затем присоединяем последовательно колонку № 2 и вновь трижды записываем хроматограммы. Обработка площадей хроматограмм в обоих случаях позволяет оценить потери или их отсутствие на колонке № 2 в сравнении с первой. Затем можно колонки поменять местами, оценив свойства первой из использованных колонок.

В ходе выполнения ряда исследований по предложенному способу установили, что при относительно слабой элюирующей силе подвижной фазы степень открытия каротиноидов может быть существенно меньше 100% (табл. 1). Однако при переходе к экстрагированию 100%-ным ацетоном потери каротиноидов в пределах погреш-

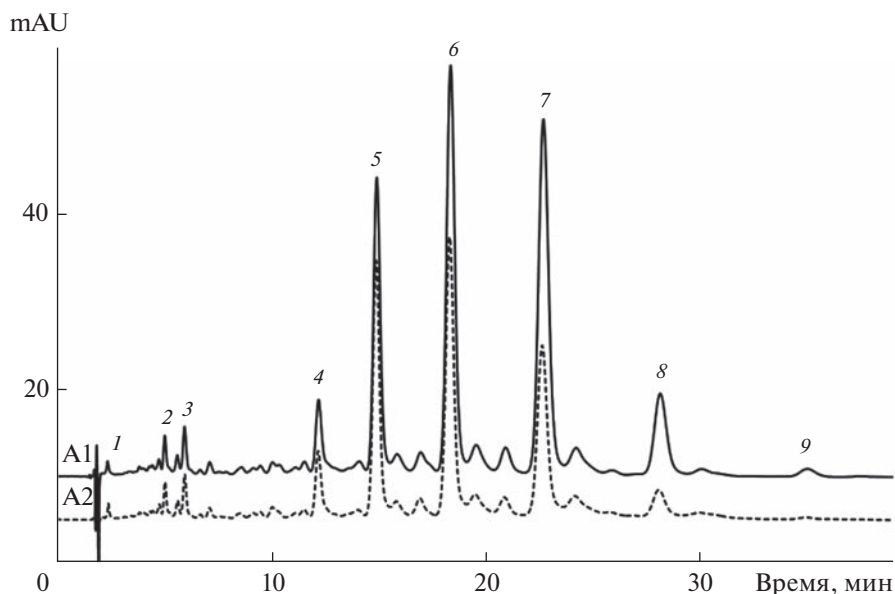


Рис. 3. Разделение каротиноидов двух образцов экстракта цветков бархатцев в элюенте состава 49 об. % этилацетата и 51 об. % ацетонитрила для проб П1 (A1) и П2 (A2). Колонка 150 × 4.6 мм Kromasil 100-5C18, 30°C, 0.8 мл/мин. Нумерация пиков — как на рис. 1.

ности эксперимента (порядка 1–1.5%) не удастся обнаружить (табл. 2). Более того, некоторый рост площадей пиков в табл. 2 может быть связан с погрешностями определения площадей не полностью разделенных пиков ($R_s < 1$), которые более точно определяются на хроматограммах с лучшим разделением компонентов. Кроме того, как указывалось выше, свидетельством отсутствия артефактов является стабильная линия давления на входе в колонку. Следовательно, причиной снижения степени открываемости каротиноидов может быть образование осадка либо в пробе (при хранении при низкой температуре), либо на колонке в процессе хроматографирования. Можно добавить, что существует еще одна причина, приводящая к уменьшению открываемости аналитов в хроматографии — диффузия молекул аналита в

галерейные поры [22]. Этот эффект, по всей видимости, также присутствует, но непрозрачность стенок колонки не позволяет его обнаружить. Однако по нашему опыту при твердофазной экстракции каротиноидов на патронах ДИАПАК C18 полная отмывка патрона от желтой окраски (при реэкстракции каротиноидов) весьма проблематична.

Условия определения диэфиров лютеина и результаты определения каротиноидов цветков бархатцев. Экспериментально установлено, что при 19–20°C осадок не образуется в пробах с концентрацией диэфиров лютеина менее 0.0003 М, растворенных в ацетоне, но при хранении в бытовом холодильнике осадок появляется уже через двое суток при концентрации 2.8×10^{-4} М.

Таблица 1. Площади пиков и степени открываемости эфиров ксантофиллов ($n = 3$) в элюенте состава 35 об. % метил-*трет*-бутилового эфира 65 об. % ацетонитрила

Диэфир лютеина	Колонка или последовательно соединенные колоноки		α , %
	K1	K1 + K2	
Димиристат	719 ± 20	502 ± 11	70
Миристат-пальмитат	1688 ± 43	1099 ± 10	65
Дипальмитат	2241 ± 53	1471 ± 19	66
Миристат-пальмитат	790 ± 46	462 ± 38	58
Дистеарат	121 ± 19	48 ± 9	40
Сумма площадей пиков	5768 ± 200	3760 ± 25	65

Примечание: K1 — колонка 100 × 4.6 мм Kromasil 100-5C18; K2 — колонка 150 × 4.6 мм Kromasil 100-5C18; α — степень открываемости.

Таблица 2. Площади пиков диэфиров лютеина при разделении на колонке 150×4.6 мм Kromasil 100-5C18 (K1) и на двух последовательно соединенных колонках 150×4.6 мм Kromasil 100-5C18 (K1) и 250×4.6 мм Kromasil 100-5C18 (K2) в 100%-ном ацетоне при различных температурах ($n = 3$)

Диэфир лютеина	K1			K1 + K2, 20°C
	30°C	25°C	20°C	
Димиристат	1223 ± 12	1238 ± 4	1256 ± 10	1271 ± 15
Миристат-пальмитат	1858 ± 16	1887 ± 20	1907 ± 19	1907 ± 20
Дипальмитат	1672 ± 16	1697 ± 17	1719 ± 18	1738 ± 11
Миристат-пальмитат	503 ± 6	502 ± 7	513 ± 8	523 ± 5
Дистеарат	64 ± 2	60 ± 5	72 ± 4	71 ± 3
Сумма площадей пиков	5320 ± 50	5384 ± 42	5467 ± 35	5510 ± 52

Установили, что элюент состава 10 об. % ацетонитрила и 90 об. % ацетона также может быть использован для разделения диэфиров ксантофиллов без проблем с выпадением осадков при разделении при температуре не ниже 20°C на колонке 250×4.6 мм Kromasil 100-5C18, защищенной предколонкой Kromasil C18, при скорости подвижной фазы 0.5 мл/мин или на двух последовательно соединенных колонках 100×4.6 мм Kromasil 100-5C18 и 250×4.6 мм Kromasil 100-5C18 в той же подвижной фазе при той же температуре; причем в этих условиях нет необходимости уменьшения скорости подачи подвижной фазы (ниже 1 мл/мин) (рис. 4).

Тип радикалов жирных кислот в диэфирах лютеина обычно идентифицируют масс-спектрометрически [7, 12], но для диэфиров цветков бархатцев можно воспользоваться доступной из литературы [12] информацией об образовании эфиров в основном миристиновой и пальмитиновой кислотами с меньшим вкладом стеариновой и лауриновой кислот. Тогда достаточно использовать экстракт физалиса декоративного, содержащего в качестве основного компонента дипальмитат зеаксантина [23], для определения дипальмитата лютеина с последующим отнесением раньше и позднее элюирующихся соединений. Инкрементный подход [12, 24] позволяет в группе рядом элюирующихся соединений обнаружить

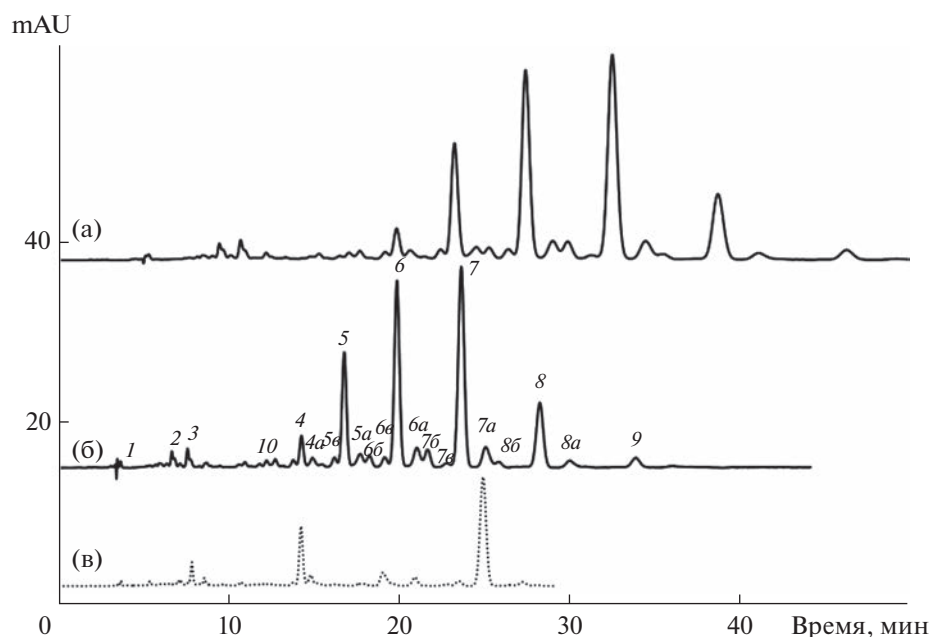


Рис. 4. Разделение каротиноидов экстракта цветков бархатцев в элюенте состава 10 об. % ацетонитрила и 90 об. % ацетона. (а): колонка 250×4.6 мм Kromasil 100-5C18 с предколонкой Kromasil C18, 20°C, 0.5 мл/мин. (б) и (в): колонки 100×4.6 мм Kromasil 100-5C18 и 250×4.6 мм Kromasil 100-5C18, 20°C, 1.0 мл/мин. Обозначение веществ 1–9 как на рис. 1, 10 — дилаурат лютеина. Дополнительные буквы обозначают производные полностью *транс*-лютеина с еще одним радикалом ненасыщенной кислоты.

Таблица 3. Условный жирнокислотный состав диэфиров лютеина (по площадям пиков на хроматограммах) пяти образцов высушенных лепестков бархатцев

Образец	Концентрация каротиноидов, М	Доля диэфиров лютеина, мол. %						
		Л ₂	ЛМ	М ₂	МП	П ₂	ПС	С ₂
1	2.8×10^{-4}	1.9	5.1	16.5	28.7	33.1	12.5	2.2
	1.4×10^{-4}	2.0	5.1	16.6	28.6	33.0	12.5	2.3
	5.7×10^{-5}	2.2	5.4	16.5	28.6	32.8	12.4	2.2
	3.1×10^{-5}	2.0	4.9	16.5	28.6	33.0	12.7	2.2
	1.2×10^{-5}	2.2	5.1	16.6	28.7	33.0	12.4	2.2
	Среднее	2.0	5.1	16.5	28.6	33.0	12.5	2.2
2	3.4×10^{-5}	0.5	2.8	11.2	24.5	39.3	17.74	4.0
3	2.7×10^{-5}	0.6	4.2	15.6	28.9	34.2	13.51	3.0
4	3.6×10^{-5}	0.7	5.4	16.3	27.3	32.3	14.33	3.6
5	4.4×10^{-5}	0.9	4.9	17.6	30.2	33.4	11.4	1.7

Обозначения диэфиров: Л₂ – дилаурат; ЛМ – лаурат-миристат; М₂ – димиристат; МП – миристат-пальмитат; П₂ – дипальмитат; ПС – альмитат-стеарат; С₂ – дистеарат.

дилаурат лютеина. На хроматограмме обнаруживается еще одна группа пиков с электронными спектрами поглощения, соответствующими полностью *транс*-лютеину, а по результатам контроля положения точек конвергенции [24] диэфиров, образованных с участием еще одной моновенасыщенной кислоты, пики этой группы веществ обозначены добавлением буквы *в*.

В табл. 3 представлены результаты определения молярной доли типов диэфиров лютеина по площадям пиков в пяти образцах (разного сорта) цветков бархатцев. Представленные данные свидетельствуют о высокой надежности определения жирнокислотного состава диэфиров в использованных условиях. На хроматограмме обнаруживаются также и другие соединения, среди которых сам лютеин (пик 1), содержание которого в экстракте находилось пределах 0.1–1.0%, моноэфиры лютеина (пики 2 и 3) – 2.0–2.6%; смесь диэфиров зеаксантина и *цис*-изомеров лютеина 7.7–9.8%, следовательно, на диэфиры полностью *транс*-лютеина приходилось 84.1–84.8%.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Mariutti L.R.B., Mercadante A.Z. Carotenoid esters analysis and occurrence: What do we know so far? // Arch. Biochem. Biophys. 2018. V. 648. P. 36.
- Mercadante A.Z., Rodrigues D.B., Petry F.C., Mariutti L.R.B. Carotenoid esters in foods – A review and practical directions on analysis and occurrence // Food Res. Int. 2017. V. 99. P. 830.
- Sarkar C.R., Bhagawati B., Das L., Goswami B.C. An efficient condition of saponification of lutein ester from marigold flower // Ann. Biol. Res. 2012. V. 3. P. 1461.
- Abdala A.F., Gallardo A.P., Olvera L.G., Silva E.M.E. Hydrolysis of carotenoid esters from *Tagetes erecta* by the action of lipases from *Yarrowia lipolytica* // Bioprocess. Bioprocess. 2017. V. 4. 5.
- Raut S., Thaneshwari T. Commercial application of lutein: Marigold flower pigment // Eco. Env. Cons. 2022. V. 28 (October Suppl. Issue). P. S315.
- Piccaglia R., Marotti M., Grandi S. Lutein and lutein ester content in different types of *Tagetes patula* and *T. erecta* // Industr. Crops Prod. 1998. V. 8. P. 45.
- Tsao R., Yang R., Young J.C., Zhu H., Manolis T. Separation of geometric isomers of native lutein diesters in marigold (*Tagetes erecta* L.) by high-performance liquid chromatography–mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2004. V. 1045. P. 65.
- Sowbhagya H.B., Sampathu S.R., Krishnamurthy N. natural colorant from marigold – Chemistry and technology // Food Rev. Int. 2004. V. 20. P. 33–50.
- Jiang X.-Y., Chen L.-S., Zhou C.-S. Lutein and lutein esters in marigold flowers by high performance chromatography // J. Cent. South Univ. Technol. 2005. V. 12. P. 306.
- Hayashi T., Oka H., Ito Y., Goto T., Ozeki N., Itakura Y., Matsumoto H., Ohno H., Yoshida K., Miyazawa T., Nagase H. An HPLC method for the analysis of marigold color in food using lutein as an indicator // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 2005. V. 27. P. 335.
- Vechpanich J., Shotipruk A. Recovery of free lutein from *Tagetes erecta*: determination of suitable saponification and crystallization conditions // Sep. Sci. Technol. 2010. V. 46. P. 265.
- Ланшова М.С., Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Блинова И.П., Третьяков М.Ю. Идентификация ксантофиллов в экстракте лепестков цветков бархатцев // Журн. аналит. химии. 2013. Т. 68. № 11. С. 1130.
- Yung J.C., Abdel-Aal E.-S.M., Rabalski I., Blackwell B.A. Identification of synthetic regioisomeric lutein esters

- and their quantification in a commercial lutein supplement // *J. Agric. Food Chem.* 2007. V. 55. P. 4965.
14. Дейнека В.И., Лапишова М.С., Захаренко Е.В., Дейнека Л.А. Особенности разделения двух классов эфиров высших насыщенных жирных кислот на “полимерной” обращенной фазе // *Журн. физ. химии.* 2013. Т. 87. № 11. С. 1943.
15. Epler K.S., Sander L.C., Ziegler R.G., Wise S.A., Craft N.E. Evaluation of reversed-phase liquid chromatographic columns for recovery and selectivity of selected carotenoids // *J. Chromatogr.* 1992. V. 595. P. 89.
16. Craft N.E., Soares J.H., Jr. Relative solubility, stability, and absorptivity of lutein and β -carotene in organic solvents // *J. Agric. Food Chem.* 1992. V. 40. P. 431.
17. Mrowicka M., Mrowicki J., Kucharska E., Majsterek I. Lutein and zeaxanthin and their roles in age-related macular degeneration – Neurodegenerative disease // *Nutrients.* 2022. V. 14. Article 827
18. Туртыгин А.В., Дейнека В.И., Дейнека Л.А. Определение состава триацилглицеринов в маслах семян граната методами обращенно-фазовой ВЭЖХ и спектрофотометрии // *Журн. аналит. химии.* 2013. Т. 68. № 6. С. 619.
19. Дейнека В.И., Буржинская Т.Г., Дейнека Л.А. Проблемы идентификации ксантофиллов лепестков *Lilium pumilum* L. при применении метода обращенно-фазовой ВЭЖХ со спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детектированием // *Аналитика и контроль.* 2019. № 4. С. 501.
20. Дейнека В.И., Сидоров А.Н., Дейнека Л.А., Тыняная И.И. Пробоподготовка при ВЭЖХ определении антоцианов и бетацианинов. Эффект растворителя образца // *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2016. Т. 16. Вып. 3. С. 384.
21. Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Сидоров А.Н., Костенко М.О., Блинова И.П. Оценка растворимости антоцианов с использованием насадок для твердофазной экстракции // *Журн. физ. химии.* 2016. Т. 90. № 4. С. 622.
22. Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Сидоров А.Н., Саенко И.И., Костенко О.М. Оценка свойств сорбентов концентрирующих патронов для твердофазной очистки: роль “галерейных” пор // *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2016. Т. 16. Вып. 5. С. 624.
23. Weller P., Breithaupt D.E. Identification and quantification of zeaxanthin esters in plants using liquid chromatography-mass spectrometry // *J. Agric. Food Chem.* 2003. V. 51. P. 7044.
24. Дейнека В.И., Дейнека Л.А. Инкрементный подход в анализе каротиноидов методом ОФ ВЭЖХ. Разделение диэфиров ксантофиллов // *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2006. Т. 6. Вып. 3. С. 366.

УДК 543.544.3:004.85

ОСОБЕННОСТИ ЛИНЕЙНОЙ КОРРЕЛЯЦИИ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ИНДЕКСОВ УДЕРЖИВАНИЯ СОЕДИНЕНИЙ РАЗЛИЧНЫХ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ ГРУПП

© 2023 г. И. Г. Зенкевич*

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

*e-mail: izenkevich@yandex.ru

Поступила в редакцию 02.09.2022 г.

После доработки 10.09.2022 г.

Принята к публикации 10.09.2022 г.

Несмотря на постоянное совершенствование сложных компьютерных алгоритмов вычисления газохроматографических индексов удерживания, сохраняют свое значение простейшие способы их оценки на основании линейных корреляционных соотношений между индексами структурных аналогов разных таксономических групп, $RI^1 \approx aRI^2 + b$. Показано, что условием корректности подобных корреляций в простейших группах (замещенные метаны) являются симбатные вариации первых конечных разностей индексов удерживания, $\Delta_{RI}^1 = RI_{n+1} - RI_n$ (эквивалентны первым производным индексов удерживания по варьируемому в группе структурному параметру). Монотонные вариации Δ_{RI}^1 в одной из групп при наличии экстремумов в другой — однозначный признак отсутствия линейной корреляции индексов удерживания. Если в одной из групп значения Δ_{RI}^1 возрастают, а в другой — убывают, то порядок ранжирования соединений в какой-либо одной из них должен быть заменен обратным. Показано, что простейшее соотношение $RI^1 \approx aRI^2 + b$ также применимо в более сложных таксономических группах (замещенные этаны, бензолы и нафталины) и позволяет не только оценивать значения RI еще не охарактеризованных в настоящее время соединений, но и уточнять известные справочные данные.

Ключевые слова: газохроматографические индексы удерживания, таксономические группы структурных аналогов, линейная корреляция, контроль корректности индексов, оценка неизвестных значений.

DOI: 10.31857/S0044450223040175, EDN: LADISF

Возможности хромато-масс-спектрометрической идентификации следов органических соединений в сложных смесях могут быть эффективно реализованы только при совместном использовании масс-спектров с ионизацией электронами и газохроматографических индексов удерживания (RI). Однако если судить по содержанию современных баз данных (в том числе [1]), число соединений, охарактеризованных масс-спектрами, существенно уступает числу соединений, для которых известны значения RI на стандартных неподвижных фазах. Например, база данных NIST [1] (версия 2020 г.) содержит 350643 масс-спектров с ионизацией электронами 306869 соединений, но значения RI имеются только для 139498 соединений. Из них лишь для части (111768) объектов одновременно известны как масс-спектры, так и индексы удерживания.

Лимитирующей стадией формирования баз справочных значений RI является доступность объектов. Наибольших затрат времени требует, при необходимости, их целенаправленный синтез. По этой причине быстрое увеличение объема массивов справочных данных маловероятно, что придает особую актуальность совершенствованию способов расчета индексов удерживания на основании структур молекул. Известно огромное число методов расчета RI , рассмотрение которых является самостоятельной задачей. В последнее время “популярны” алгоритмы, предполагающие использование различных топологических дескрипторов (QSRR) [2–4], но все большее распространение приобретают самообучающиеся алгоритмы на принципах нейронных сетей [5–8] и более сложные (например, Gene Expression Programming [9]). Вместе с тем нельзя утверждать,

что исчерпаны возможности известных и широко применяемых аддитивных схем [10, 11].

Преимущества современных компьютерных методов расчета RI [5–9] проявляются при обработке максимально больших выборок данных, что не всегда рационально. Дело в том, что по мере накопления новых данных известные справочные значения RI могут быть уточнены или даже исправлены (в том числе это относится к базе [1]), что ведет к необходимости обработки массива информации для всех соединений заново. Кроме этого, в подобных алгоритмах точность оценок индексов удерживания фактически усреднена для всех рассматриваемых объектов. Это затрудняет выявление менее надежных данных, что часто приходится проводить вручную. Кроме того, в практике хроматографического анализа актуальна необходимость решения более “локальных” задач оценки RI единичных соединений более простыми способами. При этом характеристики точности таких оценок должны относиться к конкретным результатам, а не представлять собой средние значения для метода расчетов в целом. В таких случаях эффективны алгоритмы, применимые именно для малых таксономических групп, в том числе:

1. На основании корреляции RI с положением характеризуемого соединения в соответствующей группе гомологов, конгенеров или структурных аналогов, $RI = f(n_x)$;

2. В результате корреляции значений RI соединений выбранной таксономической группы с их физико-химическими характеристиками, $RI = f(A_x)$;

3. В результате корреляции RI соединений некоторой таксономической группы (1) с известными значениями RI соединений другой группы (2) (структурных аналогов), $RI^1 = f(RI^2)$.

Алгоритмы первой группы представляют собой расширенный вариант аддитивных схем, так что их возможности сопоставимы двух с другим. Наибольшую точность оценки газохроматографических индексов удерживания обеспечивают методы второй группы, особенно предполагающие использование нормальных температур кипения гомологов или конгенеров [12, 13]. Причина этого в том, что число соединений, для которых с высокой точностью определены значения $T_{кип}$, существенно превышает число соединений, охарактеризованных значениями RI. Однако некоторая сложность таких корреляций состоит в том, что используемые для вычислений соотношения нелинейны (линейно-логарифмические) [12, 13], что несколько затрудняет вычисления:

$$\lg RI = a \lg T_{кип} + bA + c, \quad (1)$$

где A — параметр, фиксирующий положение конкретного соединения в соответствующей таксономической группе (например, число атомов углерода в молекуле, число циклов, формальная непредельность, и т.п.); a , b , c — коэффициенты, вычисляемые методом наименьших квадратов.

Вычисление индексов удерживания на основании корреляции их значений для структурных аналогов различных групп (третья группа; в общем случае такие зависимости нелинейны) предполагает использование аналогичных линейно-логарифмических соотношений [14]:

$$\lg RI^1 = a \lg RI^2 + bA + c, \quad (2)$$

при этом смысл параметров A , a , b , c — такой же, как и формуле (1).

Говоря о возможностях корреляции газохроматографических индексов удерживания структурных аналогов различных таксономических групп, нельзя не отметить практически важный частный случай. Дело в том, что для некоторых сочетаний структурных аналогов различных классов зависимость $RI^1 = f(RI^2)$ с приемлемой точностью может быть аппроксимирована простейшим уравнением линейной регрессии:

$$RI^1 \approx aRI^2 + b. \quad (3)$$

В подобных случаях получение оценок RI существенно упрощается, так как не требует применения нестандартных методов вычислений. Однако до настоящего времени не сформулированы какие-либо априорные правила выявления групп конгенеров, для которых этот вариант обеспечивает приемлемую точность результатов.

Для иллюстрации в качестве примера на рис. 1а приведена зависимость индексов удерживания бромзамещенных метанов $CH_{4-x}Br_x$ с числом атомов брома от одного до четырех ($1 \leq x \leq 4$) от значений RI структурно аналогичных хлорзамещенных метанов $CH_{4-x}Cl_x$ ($1 \leq x \leq 4$). Казалось бы, не следует ожидать больших различий свойств таких галогенопроизводных; они характеризуются близкими значениями диэлектрических проницаемостей и дипольных моментов, а атомные радиусы брома и хлора близки (1.00 и 1.15 ангстрем). Однако зависимость $RI(CH_{4-x}Br_x) = f[RI(CH_{4-x}Cl_x)]$ нелинейна, так что вычисления в таких условиях возможны только с использованием уравнения (2). При этом аналогичная зависимость индексов удерживания йодметанов и бромметанов (рис. 1б) близка к линейной (коэффициент корреляции $R = 0.9989$), хотя различия атомных радиусов йода и брома больше (1.40 и 1.15 ангстрем). Таким образом, уже из этого примера следует, что линейность или нелинейность корреляций $RI^1 = f(RI^2)$ определяется не физико-химическими характеристиками сравни-

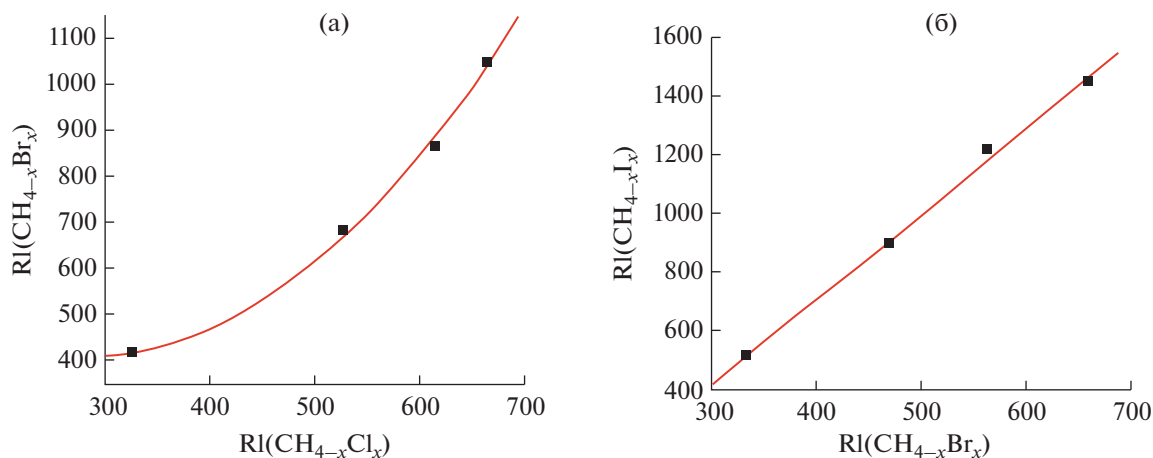


Рис. 1. Иллюстрация типичной нелинейной и практически линейной зависимостей индексов удерживания соединений разных таксономических групп: (а) — бромметаны и хлорметаны, $1 \leq x \leq 4$; (б) — йодметаны и бромметаны, $1 \leq x \leq 4$. При использовании уравнения (2) нелинейная зависимость (а) может быть приведена к линейному виду. Параметры линейной регрессии (б): $a = 1.49 \pm 0.05$, $b = -101 \pm 39$, $R = 0.9989$, $S_0 = 23$.

ваемых структурных аналогов, а какими-то иными причинами.

Комментируя рис. 1б, следует заметить, что значение RI тетраиодметана (1862) непропорционально завышено по сравнению с другими йодпроизводными: 516 ± 7 (CH_3I), 899 ± 9 (CH_2I_2) и 1209 ± 24 (CHI_3). В базу [1] оно включено на основании двух публикаций [15, 16], но, скорее всего, ошибочно. Дело в том, что CI_4 плавится при $168\text{--}171^\circ\text{C}$ с разложением, следовательно, его газохроматографический анализ невозможен из-за деградации в испарителе хроматографа. Поэтому значение RI, принадлежащее какому-то другому соединению (продукту разложения CI_4), было заменено экстраполированной теоретически ожидаемой оценкой 1446, вычисленной по линейно-логарифмическому соотношению (2) на основании данных для трех остальных йодметанов. Как отмечено в работе [17], проверка надежности исходных данных — необходимая стадия корреляций “свойство—свойство”.

Цель настоящей работы состоит в выявлении критериев применимости простейших линейных соотношений (3) для оценки газохроматографических индексов удерживания конгенов различных таксономических групп на основании значений индексов для конгенов других групп. Решаемые при этом задачи включают оценку неизвестных значений RI, проверку их правильности и, в отдельных случаях, идентификацию аналогов.

ВЫБОР ИСХОДНЫХ ДАННЫХ И ИХ ОБРАБОТКА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ)

Источником газохроматографических индексов удерживания рассматриваемых соединений на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах служила база NIST [1]. Значения RI этоксисилоанолов $(C_2H_5O)_{4-x}Si(OH)_x$ ($1 \leq x \leq 3$) заимствовали из работы [18] (там же указаны условия газохроматографического анализа).

Для вычислений методом наименьших квадратов использовали программное обеспечение Excel (Microsoft 2007) и Origin (версии 8.1 и 4.1). В качестве критериев корректности линейных зависимостей $RI^1 \approx aRI^2 + b$ выбирали а) значения коэффициентов корреляции $R > 0.99$ и б) результаты сравнения минимальных разностей RI гомологов характеризуемой группы со значениями генеральных дисперсий S_0 . Величины S_0 в первом приближении характеризуют надежность значений, вычисляемых по уравнению линейной регрессии (для более точных оценок используют так называемые коридоры ошибок [19]). Результаты аппроксимации RI по соотношениям вида (3) значимы, если минимальные разности индексов удерживания соседних структурных аналогов превышают удвоенные значения S_0 :

$$\min |RI_i - RI_{i\pm 1}| > 2S_0. \quad (4)$$

Невыполнение неравенства (4) соответствует ненадежным оценкам RI, которые нецелесообразно использовать для решения аналитических задач.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Таксономические группы структурных аналогов. Особенности линейной корреляции газохроматографических индексов удерживания структурных аналогов выявляли на примерах соединений нескольких таксономических типов, в том числе следующих:

1. Замещенные метаны: $\text{CH}_4 \rightarrow \text{CH}_3\text{X} \rightarrow \text{CH}_2\text{X}_2 \rightarrow \text{CHX}_3 \rightarrow \text{CX}_4$. Поскольку в таких группах первый член (CH_4 , $\text{RI} = 100$) одинаков, то его исключали из рассмотрения. В результате в них остается всего по четыре объекта, что снижает практическую ценность таких корреляций RI , но упрощает выявление их закономерностей и особенностей.

2. Замещенные этаны: $\text{C}_2\text{H}_6 \rightarrow \text{C}_2\text{H}_5\text{X} \rightarrow \text{CH}_3\text{CHX}_2 \rightarrow \text{XCH}_2\text{CH}_2\text{X} \rightarrow \text{XCH}_2\text{CHX}_2 \rightarrow \text{XCH}_2\text{CX}_3 \rightarrow \text{X}_2\text{CHCHX}_2 \rightarrow \text{X}_2\text{CHCX}_3 \rightarrow \text{X}_3\text{C-CX}_3$. После исключения незамещенного этана ($\text{RI} = 200$) в таких группах остается по восемь соединений, часть из которых (в зависимости от природы X) не охарактеризована значениями RI , что делает решение подобных задач более актуальным, чем соединений первого типа.

3. Замещенные бензолы: $\text{C}_6\text{H}_6 \rightarrow \text{C}_6\text{H}_5\text{X} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_4\text{X}_2$ (три изомера) $\rightarrow \text{C}_6\text{H}_3\text{X}_3$ (три изомера) $\rightarrow \text{C}_6\text{H}_2\text{X}_4$ (три изомера) $\rightarrow \text{C}_6\text{HX}_5 \rightarrow \text{C}_6\text{X}_6$. Без незамещенного бензола ($\text{RI} = 654 \pm 7$ [1]) число объектов в таких группах равно 13. Для многих из них получение оценок RI является актуальной задачей из-за отсутствия экспериментальных данных.

4. Замещенные нафталины: $\text{C}_{10}\text{H}_8 \rightarrow \text{C}_{10}\text{H}_7\text{X}$ (два изомера) $\rightarrow \text{C}_{10}\text{H}_6\text{X}_2$ (10 изомеров). Эти группы чаще всего приходится ограничивать дизамещенными соединениями, так как для многих изомеров с тремя даже простейшими заместителями (метильные группы) надежные значения RI неизвестны [1].

Особенности корреляции газохроматографических индексов удерживания в группе замещенных метанов и родственных соединений¹. Проверка взаимной корреляции значений RI замещенных метанов при разных X ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}, \text{OCH}_3, \text{OC}_2\text{H}_5, \text{CH}_3, \text{C}_6\text{H}_5$ и др.) позволяет выявить примеры как нелинейности зависимостей $\text{RI}^1 = f(\text{RI}^2)$ (рис. 1а), так и (реже) их линейности (как на рис. 1б). Для характеристики рассматриваемого подхода необходимо выяснить причины подобных различий, которые, как отмечено выше, не связаны с химической природой фрагментов X .

Необходимым, но не достаточным условием взаимной линейной корреляции индексов удерживания структурных аналогов являются их симбатные изменения в обеих сравниваемых груп-

пах. Если в одной из групп значения RI монотонно возрастают или убывают, а во второй имеется экстремум, то применение соотношений вида (3) не может обеспечить необходимую точность оценок. Экстремумы индексов удерживания (максимумы) наблюдаются, например, в группах метоксиметанов $\text{CH}_3\text{O} \rightarrow \dots \rightarrow \text{C}(\text{OCH}_3)_4$, фторметанов $\text{CH}_3\text{F} \rightarrow \dots \rightarrow \text{CF}_4$, метилсиланов $\text{CH}_3\text{SiH}_3 \rightarrow \dots \rightarrow \text{Si}(\text{CH}_3)_4$ и других.

Для получения более определенных заключений об особенностях вариации значений RI в разных группах необходимо сопоставить не просто значения индексов удерживания, а их первых конечных разностей, $\Delta_{\text{RI}}^1 = \text{RI}_{i+1} - \text{RI}_i$ (табл. 1). Так, для рассмотренного выше примера бром- и хлорметанов (рис. 1) индексы удерживания монотонно возрастают в каждой из групп. Однако разности Δ_{RI}^1 в ряду $\text{CH}_3\text{Cl} \rightarrow \text{CCl}_4$ монотонно убывают от 201 до 48, тогда как в ряду $\text{CH}_3\text{Br} \rightarrow \text{CBr}_4$ последнее значение Δ_{RI}^1 (186) несколько больше предыдущего (181), т.е. набор значений Δ_{RI}^1 характеризуется незначительным экстремумом (минимумом). В математическом смысле первые конечные разности Δ_{RI}^1 эквивалентны первой производной функции $\text{RI} = f(n_{\text{X}})$ по числу варьируемых фрагментов структуры, однако выявление причин вариаций ее знака (появления экстремумов) даже на феноменологическом уровне представляет собой сложную задачу. Наиболее вероятным представляются стерические взаимодействия фрагментов X в молекулах, аналогичные эффектам, выявленным в работе [20] на примере метилбензолов.

Таким образом, если в одной из сопоставляемых таксономических групп первые разности индексов удерживания Δ_{RI}^1 изменяются монотонно, а во второй характеризуются экстремумами, то корреляция таких значений RI не может обеспечить приемлемой точности их оценок. К таким примерам относятся сочетания набора данных $\text{CH}_3\text{Cl} \rightarrow \text{CCl}_4$ (значения Δ_{RI}^1 монотонно убывают) с наборами данных $\text{CH}_3\text{OCH}_3 \rightarrow \text{C}(\text{OCH}_3)_4$, $\text{CCl}_3\text{Br} \rightarrow \text{CBr}_4$, $(\text{CH}_3)_3\text{SiCl} \rightarrow \text{SiCl}_4$ (во всех случаях существуют максимумы значений Δ_{RI}^1) и другими.

С другой стороны, если оба сравниваемых набора значений RI характеризуются экстремумами Δ_{RI}^1 , то можно полагать, что их корреляция окажется вполне приемлемой по критерию точности оценок индексов удерживания. В табл. 2 сопоставлены индексы удерживания серии метоксиметанов $\text{CH}_3\text{OCH}_3 \rightarrow \text{C}(\text{OCH}_3)_4$ (данные для которых недостаточно надежны [1] и заслуживают уточнения), рассматриваемые как функция индексов удерживания хлорбромметанов

¹ Топологическими аналогами замещенных метанов являются, например, замещенные силаны.

Таблица 1. Индексы удерживания бром- и хлорметанов [1] и их разности

Бромметан	RI	Δ_{RI}^1	Хлорметан	RI	Δ_{RI}^1
CH ₃ Br	415 ± 5	268 181* 186	CH ₃ Cl	327 ± 3	201
CH ₂ Br ₂	683 ± 6		CH ₂ Cl ₂	528 ± 10	87
CHBr ₃	864 ± 11		CHCl ₃	615 ± 6	48
CBr ₄	1050 ± 5		CCl ₄	663 ± 16	

* Минимум значений Δ_{RI}^1 .**Таблица 2.** Индексы удерживания хлорбром- и метоксиметанов [1] и их разности

Метоксиметан	RI	Δ_{RI}^1	Аппроксимированное значение RI	Хлорбромметан	RI	Δ_{RI}^1
CH ₃ OCH ₃	427 ± 19	81 194* 128	408	CCl ₃ Br	757 ± 5	87
CH ₂ (OCH ₃) ₂	508 ± 2		531	CCl ₂ Br ₂	844 ± 1	111* 95
CH(OCH ₃) ₃	702		689	CClBr ₃	955	
C(OCH ₃) ₄	830 ± 4		824	CBr ₄	1050 ± 5	

* Максимумы значений Δ_{RI}^1 .

CCl₃Br → CBr₄. В обеих группах регистрируются максимумы Δ_{RI}^1 , однако корреляция значений RI этих совокупностей структурных аналогов, иллюстрируемая рис. 2, вполне пригодна для получения практически полезных оценок индексов. Все значения Δ_{RI}^1 превышают удвоенную генеральную дисперсию $S_0 = 23$. Параметры уравнения линейной регрессии и расчетные значения RI указаны в табл. 2; среднее значение абсолютного отклонения расчетных и справочных величин составляет всего 15 ± 5 ед. индекса.

Значения Δ_{RI}^1 в двух сравниваемых таксономических группах должны либо одновременно возрастать, либо убывать. Поэтому еще одной причиной отсутствия линейной корреляции $RI^1 = f(RI^2)$ являются антибатные изменения Δ_{RI}^1 , что эквивалентно разным знакам первой производной dRI/dn_X . В качестве примера можно привести корреляцию индексов удерживания фторхлорметанов CF_{4-x}Cl_x и хлорметанов CH_{4-x}Cl_x ($1 \leq x \leq 4$), результаты которой иллюстрирует рис. 3а, б. Если обе группы структурных аналогов сформированы по увеличению числа атомов хлора в молекуле, т.е. CF₃Cl → ... → CCl₄ и CH₃Cl → ... → CCl₄, то за-

висимость $RI^1 = f(RI^2)$ нелинейна (рис. 3а). Причина этого в том, что в первой из этих серий значения Δ_{RI}^1 возрастают, а во второй — убывают. Чтобы преобразовать данные к линейной зависи-

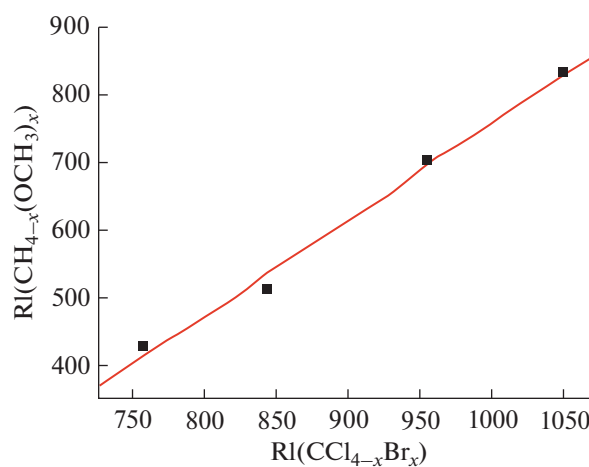


Рис. 2. Корреляция индексов удерживания метоксиметанов и хлорбромметанов ($1 \leq x \leq 4$). Параметры линейной регрессии: $a = 1.42 \pm 0.10$, $b = -667 \pm 95$, $R = 0.995$, $S_0 = 23$.

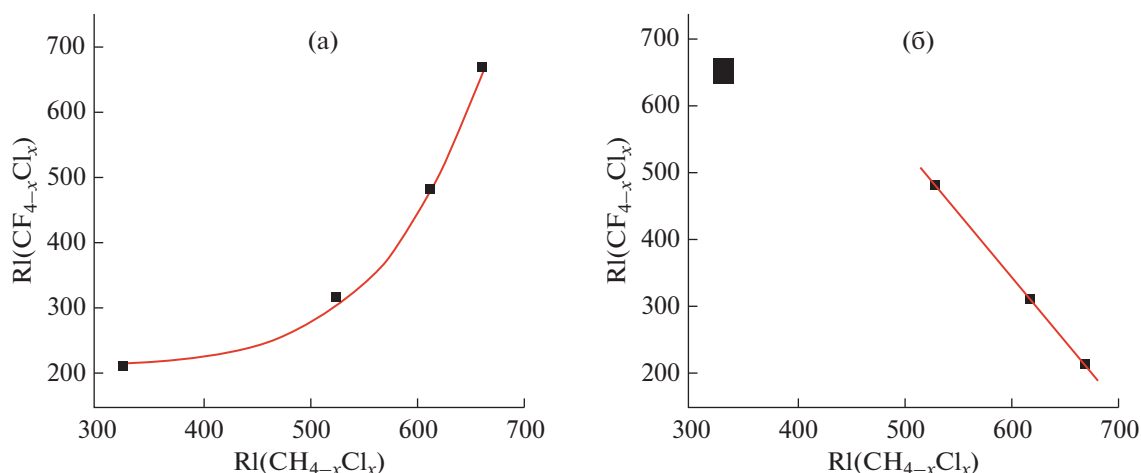


Рис. 3. Корреляция индексов удерживания фторхлорметанов и хлорметанов ($1 \leq x \leq 4$). (а): Нелинейная зависимость: обе группы структурных аналогов ранжированы по увеличению числа атомов хлора в молекуле: $CF_3Cl \rightarrow CCl_4$ и $CH_3Cl \rightarrow CCl_4$; (б): группы аналогов ранжированы по увеличению значений Δ_{RI}^1 : $CF_3Cl \rightarrow CCl_4$ и $CCl_4 \rightarrow CF_3Cl$ и $CH_3Cl \rightarrow CCl_4$. После исключения точки $CH_3Cl - CCl_4$ (слева сверху) параметры линейной регрессии для трех оставшихся пар: $a = -2.00 \pm 0.06$, $b = 1536 \pm 38$, $R = 0.9995$, $S_0 = 6$.

мости последовательность структурных аналогов в первой из этих групп (целевой) нужно изменить на противоположную, т.е. ранжировать по уменьшению значений Δ_{RI}^1 , $CCl_4 \rightarrow \dots \rightarrow CF_3Cl$. Однако в результате этого преобразования данных на графике появляется точка (показана на рис. 3б в увеличенном масштабе слева сверху), отвечающая паре соединений $CH_3Cl - CCl_4$, которые не содержат фтора и, следовательно, по химическим признакам не соответствуют остальным фторпроизводным. Поэтому вполне закономерно, что она выпадает из общей линейной регрессии; коэффициент корреляции для трех оставшихся пар соединений составляет $R = 0.9995$.

В качестве примера применения обсуждаемых особенностей корреляции значений RI в группе замещенных метанов и их аналогов (в том числе кремнийсодержащих) небезынтересно рассмотреть газохроматографическую идентификацию необычных продуктов частичного гидролиза тетраэтоксисилана $(C_2H_5O)_4Si$ ($RI\ 978 \pm 10$). В их числе обнаружены триэтоксисиланол $(C_2H_5O)_3SiOH$ ($RI\ 727 \pm 3$), диэтоксисиландиол $(C_2H_5O)_2Si(OH)_2$ ($RI\ 608 \pm 1$) и этоксисилантриол $(C_2H_5O)Si(OH)_3$ ($RI\ 537 \pm 2$) [18]. Если сравнивать значения RI таких этоксисиланолов, ранжированные “естественным образом” по увеличению числа этоксигрупп в молекулах (соответствует возрастанию значений Δ_{RI}^1), с данными для хлорметанов $CH_3Cl \rightarrow CCl_4$ (соответствует уменьшению Δ_{RI}^1), то зависимость $RI^1 = f(RI^2)$ оказывается нелинейной (рис. 4а). Для ее линеаризации одну

из этих последовательностей необходимо заменить обратной, например, рассматривать совокупность этоксисиланолов по увеличению числа OH -групп в молекуле, $(C_2H_5O)_4Si \rightarrow \dots \rightarrow (C_2H_5O)Si(OH)_3$. В результате получаем практически “идеальную” линейную регрессию (коэффициент корреляции R достигает 0.9995), график которой изображен на рис. 4б. Примечательно, что разметка осей рис. 4а и 4б, естественно, одинакова, и для того чтобы различить два рассматриваемых варианта, необходимы специальные комментарии.

Для дополнительного подтверждения того, что продукты частичного гидролиза тетраэтоксисилана образуют совокупность конгенов, можно рассмотреть еще одну корреляцию их значений RI с данными для какой-либо иной совокупности структурных аналогов, например йодалканов Cl_4 ($RI\ 1446$) $\rightarrow CHI_3$ (1209 ± 24) $\rightarrow CH_2I_2$ (899 ± 9) $\rightarrow CH_3I$ (516 ± 7). Бромалканы для этого использовать нельзя из-за присущего им небольшого максимума значений Δ_{RI}^1 (см. табл. 1). График линейной зависимости $RI^1 \approx aRI^2 + b$ приведен на рис. 5. После исключения точки, соответствующей паре соединений $CH_3I - (C_2H_5O)_4Si$, значение R для трех оставшихся пар структурных аналогов равно -0.998 при $S_0 = 9$.

Рассматриваемые корреляции $RI^1 \approx aRI^2 + b$ рекомендуется использовать не только для оценки, но и для проверки надежности справочных значений индексов удерживания наименее подробно охарактеризованных “экзотических” соединений. При этом в качестве реперных объектов

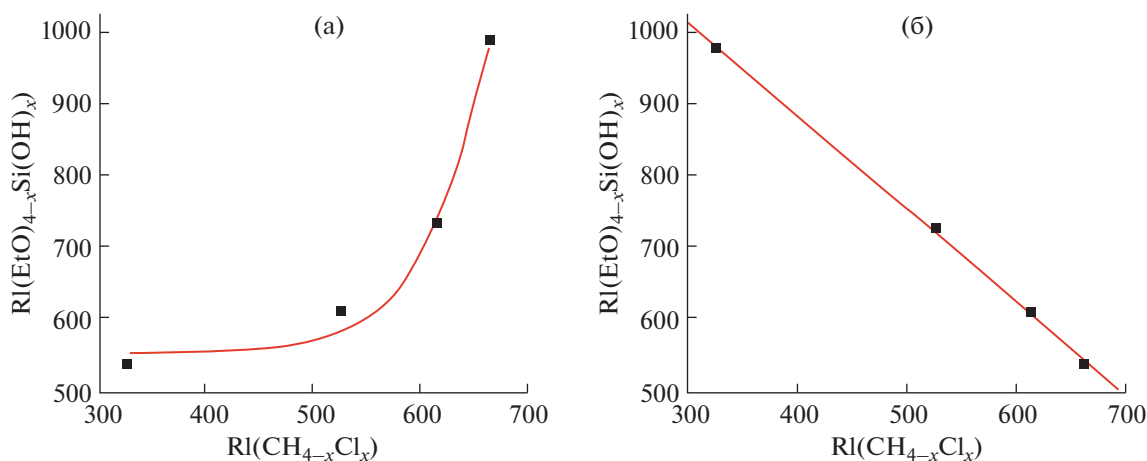


Рис. 4. Корреляция индексов удерживания этоксисиланолов $(C_2H_5O)_{4-x}Si(OH)_x$ и хлорметанов ($1 \leq x \leq 4$). (а): Нелинейная зависимость: значения RI этоксисиланолов ранжированы по увеличению молекулярных масс (или, иначе, числа этоксигрупп в молекуле), что соответствует возрастанию Δ_{RI}^1 ; (б): обе группы ранжированы по убыванию значений Δ_{RI}^1 , что приводит к обращению последовательности алкоксисиланолов: $(C_2H_5O)_4Si \rightarrow (C_2H_5O)Si(OH)_3$. Параметры регрессии (б): $a = 1.30 \pm 0.03$, $b = 1408 \pm 16$, $R = -0.9995$, $S_0 = 8$.

(с которыми проводят сравнение) целесообразно выбирать соединения с хорошо известными и воспроизводимыми значениями RI , например подробно охарактеризованные углеводороды. Следующий пример относится именно к такому типу: необходимо проверить известные значения RI метилсиланов $CH_3SiH_3 \rightarrow Si(CH_3)_4$. Данные для простейшего монометилсилана в базе [1] отсутствуют, а следующие два гомолога охарактеризованы в единственной работе [21], поэтому их приходится дополнять расчетными величинами на основании температур кипения [12–14]. Значения RI метилсиланов можно сопоставлять с данными для изоструктурных алканов C_2-C_5 , что иллюстрирует табл. 3.

График зависимости $RI^1 = f(RI^2)$ в данном случае настолько близок к линейному, что его вполне можно не приводить и ограничиться только параметрами линейной регрессии: $a = 1.01 \pm 0.03$, $b = 39 \pm 9$, $R = 0.9992$, $S_0 = 4.5$. Таким образом, подтверждено, что известные значения RI метилсиланов достаточно надежны.

При соответствующем контроле вариаций Δ_{RI}^1 в сравниваемых группах структурных аналогов рассмотренный подход не имеет принципиальных ограничений и отличается исключительной простотой.

Корреляция газохроматографических индексов удерживания в других таксономических группах (большого объема) существенно расширяет возможности рассматриваемого подхода. С другой стороны, можно ожидать непредсказуемого усложнения зависимостей $RI^1 = f(RI^2)$, например,

за счет проявления трудно формализуемых стерических эффектов, заметных лишь для отдельных соединений в пределах таких групп. В качестве примера целесообразно рассмотреть группу замещенных этанов (9 конгенов), значения RI которых сопоставлены с данными для изоструктурных алканов (табл. 4). Из их графического представления (рис. 6) следует, что весь набор точек “распадается” на две подгруппы, соответствующие двум линейным участкам: (I) для соединений

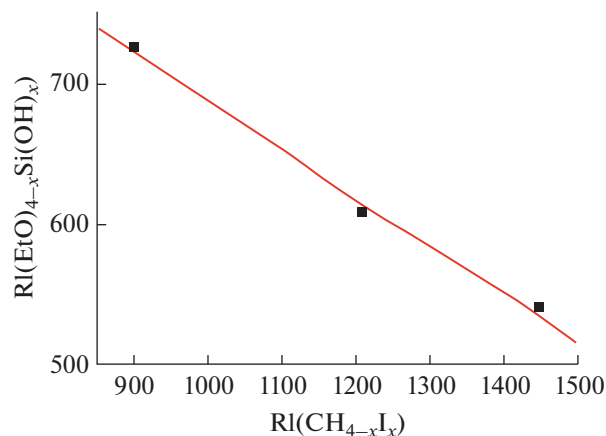


Рис. 5. Корреляция индексов удерживания этоксисиланолов $(C_2H_5O)_{4-x}Si(OH)_x$ и йодметанов ($2 \leq x \leq 4$). Обе группы структурных аналогов ранжированы по убыванию значений Δ_{RI}^1 . Параметры линейной регрессии: $a = -0.35 \pm 0.02$, $b = 1038 \pm 29$, $R = -0.998$, $S_0 = 9$.

Таблица 3. Индексы удерживания метилсиланов и алканов C_2-C_5 [1]

Метилсилан	RI	Δ_{RI}^1	Аппроксимированное значение RI	Алкан	RI	Δ_{RI}^1
CH_3SiH_3	243 ± 8	94	240	C_2H_6	200	100
$(CH_3)_2SiH_2$	337 ± 8	71	342	C_3H_8	300	62
$(CH_3)_3SiH$	408	48	402	<i>изо</i> - C_4H_{10}	362 ± 7	51
$(CH_3)_4Si$	456 ± 16		413	<i>нео</i> - C_5H_{12}	413 ± 2	

Таблица 4. Индексы удерживания хлорэтанов $C_2H_6-xCl_x$ и алканов C_3-C_8 [1]

Номер соединения	Хлорэтан	RI	Аппроксимированное значение RI (номер подгруппы)	Алкан (структурный аналог)	RI
1	C_2H_5Cl	422 ± 8	436 (I)	C_3H_8	300
2	$ClCH_2-CH_2Cl$	642 ± 7	624 (I)	C_4H_{10}	400
3	CH_3-CHCl_2	558 ± 19	553 (I)	Изобутан	362 ± 7
4	$ClCH_2-CHCl_2$	768 ± 4	761 (I)	Изопентан	473 ± 4
5	CH_3-CCl_3	641 ± 7	648 (I)	Неопентан	413 ± 2
6	$ClCH_2-CCl_3$	869	882 (I), 876 (II)	2,2-Диметилбутан	537 ± 2
7	$Cl_2CH-CHCl_2$	916	905 (II)	2,3-Диметилбутан	566 ± 3
8	C_2HCl_5	969	974 (II)	2,2,3-Триметилбутан	635 ± 4
9	C_2Cl_6	1064	1063 (II)	2,2,3,3-Тетраметилбутан	724 ± 9

№№ 1–6 (содержат от одного до четырех атомов хлора) и (II) для соединений №№ 6–9 (от четырех до шести атомов хлора). Параметры двух уравне-

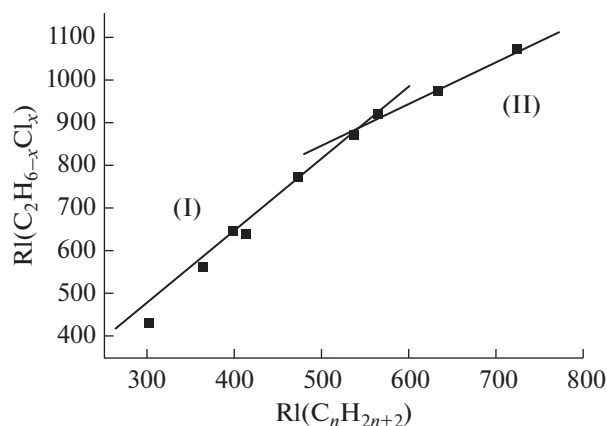


Рис. 6. Корреляция индексов удерживания хлорэтанов $C_2H_6-xCl_x$ ($1 \leq x \leq 6$) и алканов C_3-C_8 . Параметры линейной регрессии участка (I): $a = 1.88 \pm 0.08$, $b = 128 \pm 32$, $R = 0.997$, $S_0 = 14$; участка (II): $a = 1.00 \pm 0.07$, $b = 339 \pm 43$, $R = 0.995$, $S_0 = 10$.

ний линейной регрессии, соответствующие каждому из этих участков, приведены в подписи к рисунку. Объяснение причин появления двух линейных участков в настоящий момент представляется затруднительным, и к этому факту следует относиться как к феноменологически выявленной закономерности. Аналогично два линейных участка зависимости $RI^I = f(RI^I)$ наблюдаются при корреляции значений RI хлор- и бромэтанов.

Средняя точность оценок индексов удерживания хлорэтанов по данным для изоструктурных углеводородов составляет 9 ± 5 ед. индекса, что вполне достаточно для практических целей и не уступает возможностям гораздо более сложных методов. Поскольку атомы хлора могут находиться при двух атомах углерода, это усложняет использование первых конечных разностей индексов удерживания Δ_{RI}^I (массив Δ_{RI}^I становится двумерным).

Проверку возможностей рассматриваемого подхода в группах замещенных бензолов целесообразно начать с сопоставления индексов удерживания бром- и хлорбензолов. Справочные данные приведены в табл. 5; для некоторых бромбен-

Таблица 5. Индексы удерживания бромбензолов $C_6H_{6-x}Br_x$ и хлорбензолов $C_6H_{6-x}Cl_x$ [1]

Хлорбензол	RI	Бромбензол	RI	Расчетное значение RI
Монохлор-	839 ± 7	Монобром-	839 ± 7	
1,2-Дихлор-	1016 ± 11	1,2-Дибром-	1216 ± 5	
1,3-Дихлор-	989 ± 10	1,3-Дибром-	1190 ± 7	
1,4-Дихлор-	995 ± 10	1,4-Дибром-	1193	
1,2,3-Трихлор-	1199 ± 12	1,2,3-Трибром-	—*	1530
1,2,4-Трихлор-	1160 ± 13	1,2,4-Трибром-	—	1464**
1,3,5-Трихлор-	1117 ± 14	1,3,5-Трибром-	1390	
1,2,3,4-Тетрахлор-	1364 ± 11	1,2,3,4-Тетрабром-	—	1808
1,2,3,5-Тетрахлор-	1322 ± 11	1,2,3,5-Тетрабром-	—	1737
1,2,4,5-Тетрахлор-	1326 ± 18	1,2,4,5-Тетрабром-	1697	
Пентахлор-	1501 ± 5	Пентабром-	—	2039
Гексахлор-	1691 ± 5	Гексабром-	2379	

* Прочерк означает отсутствие справочных данных в базе [1]; ** оценка RI по аддитивной схеме [10] равна 1460.

золов значения RI неизвестны, что объясняет актуальность их оценки. Поскольку значение коэффициента корреляции R достигает 0.9989, график зависимости $RI^1 = f(RI^2)$ (рис. 7) подтверждает ее линейность.

Объективным ограничением такого способа оценки индексов удерживания является невозможность различить некоторые изомеры положения, характеризующиеся относительно небольшими различиями RI, например *орто*-, *мета*- и *пара*-дибромбензолы с индексами 1216, 1190 и 1193 соответственно. Их попарные разности меньше удвоенной величины $S_0 = 24$ (см. уравнение (4)). Примечательно, что для изомерных трибромбензолов таких совпадений уже нет: 1530 (1,2,3-изомер), 1464 (1,2,4-изомер) и 1390 (1,3,5-изомер).

Аналогичные оценки RI на основании их взаимных корреляций для соединений различных таксономических групп получены для Br- и Cl-бензолов $C_6H_{6-x}Hal_x$ ($1 \leq x \leq 6$) в результате их сравнения с данными для метилбензолов. Для индексов удерживания йодбензолов $C_6H_{6-x}I_x$ ($1 \leq x \leq 3$) эффективным оказалось их сравнение с данными для соответствующих хлорбензолов, метиловых эфиров бензолкарбоновых кислот $C_6H_{6-x}(CO_2CH_3)_x$ ($1 \leq x \leq 4$) — с хлорбензолами, хлорнафталинов $C_{10}H_{8-x}Cl_x$ ($1 \leq x \leq 4$) — с метилнафталинами) и т.д.

Таким образом, анализ возможностей и особенностей простейшей линейной корреляции газохроматографических индексов удерживания соединений разных таксономических групп

структурных аналогов, $RI^1 \approx aRI^2 + b$ позволил установить следующее:

— Если каждое соединение в соответствующей группе однозначно задано молекулярной формулой, т.е. не имеет изомеров (это возможно для простейших замещенных метанов, $CH_3X \rightarrow \dots \rightarrow CX_4$), то условием линейной корреляции индексов удерживания в таких группах являются симбатные вариации первых конечных разностей индексов удерживания, $\Delta_{RI}^1 = RI_{n+1} - RI_n$. Наличие экстремумов Δ_{RI}^1 в одной из групп при их монотонном изменении в другой — однозначный признак отсутствия линейной корреляции $RI^1 \approx aRI^2 + b$. Если в одной из групп значения Δ_{RI}^1

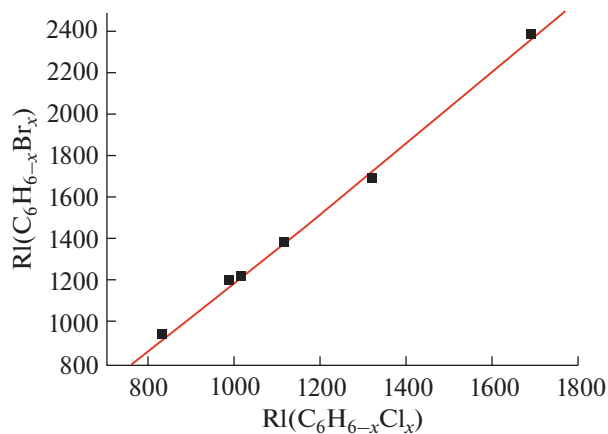


Рис. 7. Корреляция индексов удерживания бромбензолов $C_6H_{6-x}Br_x$ ($1 \leq x \leq 6$) и соответствующих хлорбензолов. Параметры линейной регрессии: $a = 1.68 \pm 0.03$, $b = -489 \pm 40$, $R = 0.9989$, $S_0 = 24$.

возрастают, а в другой — убывают, то в любой из групп порядок ранжирования соединений должен быть заменен обратным.

— Показано, что корреляции индексов удерживания возможны в таких группах структурных аналогов, как замещенные этаны, бензолы, нафталины и других. Во всех случаях использование простейшего соотношения $RI^1 \approx aRI^2 + b$ позволяет не только оценивать значения RI еще не охарактеризованных в настоящее время соединений, но и уточнять ненадежные справочные данные.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. The NIST Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH EI MS Library, 2020 Release). Software/Data Version; NIST Standard Reference Database, Number 69, May 2020. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899: <http://webbook.nist.gov> (дата обращения: сентябрь 2022 г.).
2. *Pompe M., Novic M.* Prediction of gas-chromatographic retention indices using topological descriptors // *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 1999. V. 39. № 1. P. 59. <https://doi.org/10.1021/ci980036z>
3. *Farkas O., Heberger K., Zenkevich I.G.* Quantitative structure-retention relationships XIV. Prediction of GC retention indices for saturated O-, N-, and S-heterocyclic compounds // *Chemometr. Intel. Lab. Systems.* 2004. V. 72. P. 173.
4. *Heberger K.* Quantitative structure — (chromatographic) retention relationships (QSRR) // *J. Chromatogr. A.* 2007. V. 1158. P. 273. <https://doi.org/10.1016/chroma.2007.03.108>
5. *Matyushin D., Buryak A.* Gas chromatographic retention index prediction using multimodal machine learning // *IEEE Access.* 2020. V. 8. P. 223140. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2020.3045047>
6. *Matyushin D.D., Sholokhova A.Yu., Buryak A.K.* Deep learning based prediction of gas chromatographic retention indices for a wide variety of polar and mid-polar liquid stationary phases // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. 13 p. <https://doi.org/10.3390/ijms22179194>
7. *Idroes R., Noviandy T.R., Maulana A., Syhendra R., Sasmita N.R., Muslem M., Idroes G.M., Kemala P., Irvanizam I.* Application of genetic algorithm — multiple linear regression and artificial neural network determination for prediction of Kovats retention index // *Int. Rev. Model. Simulat.* 2021. V. 14. № 2. 137 p. <https://doi.org/10.15866/iremos.v14i2.20460>
8. *Qu C., Schneider B.I., Kearsley A.J., Keyrouz W., Allison T.C.* Predicting Kovats retention indices using graph neural networks // *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1646. Art. 462100. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462100>
9. *Zhang X., Shi L., Ding L., Sun Z., Song L., Qu H., Sun T.* Study on quantitative structure — retention relationships (QSRR) for oxygen-containing organic compounds based on gene expression programming (GEP) // *J. Chromatogr. Sep. Tech.* 2015. V. 6. № 7. 7 p. <https://doi.org/10.4172/2157-7064.1000306>
10. *Stein S.E., Babushok V.I., Brown R.L., Linstrom P.J.* Estimation of Kovats retention indices using group contribution // *J. Chem. Inf. Model.* 2007. V. 47. P. 975. <https://doi.org/10.1021/ci600548y>
11. *Зенкевич И.Г., Елисеенков Е.В., Касаточкин А.Н.* Идентификация продуктов органических реакций при отсутствии аддитивности хроматографических индексов удерживания. Хлорпроизводные метил-трет-бутилкетона // *Журн. структ. химии.* 2013. Т. 54. № 3. С. 453. <https://doi.org/10.1134/S0022476613030050>
12. *Зенкевич И.Г.* Формирование таксономических групп органических соединений для расчета газохроматографических индексов удерживания по физико-химическим константам // *Журн. структ. химии.* 1994. Т. 35. № 6. С. 176.
13. *Zenkevich I.G.* Reciprocally unambiguous conformity between GC retention indices and boiling points within two- and multidimensional taxonomic groups of organic compounds // *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* 1998. V. 21. № 10. P. 565.
14. *Зенкевич И.Г.* Принцип структурной аналогии при оценке газохроматографических индексов удерживания // *Журн. структ. химии.* 1996. Т. 37. № 4. С. 793.
15. *Waggott A., Davies I.W.* Identification of organic pollutants using linear temperature programmed retention indices (LTPRIs) — Part II // 1984. <http://dwi.defra.gov.uk/research/completed/research/reports/dwi0383.pdf> (дата обращения: август 2022 г.).
16. *Yasuhara A., Morita M., Fuwa K.* Temperature-programmed retention indices of 221 halogenated organic compounds with 1-bromoalkanes as references // *J. Chromatogr.* 1985. V. 328. P. 35. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)87374-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)87374-X)
17. *Зенкевич И.Г.* Контроль, коррекция и восстановление значений физико-химических свойств органических соединений с использованием рекуррентных зависимостей // *Журн. физ. химии.* 2021. Т. 95. № 5. С. 700. <https://doi.org/10.1134/S0036024421040294>
18. *Зенкевич И.Г., Баранов Д.А.* Газохроматографическая идентификация необычных нестабильных продуктов частичного гидролиза тетраэтоксисилана // *Журн. аналит. химии.* 2023. Т. 78. № 1. С. .
19. *Линник Ю.В.* Метод наименьших квадратов и основы теории обработки наблюдений. М.: Физматгиз, 1958. 334 с.
20. *Зенкевич И.Г.* Выявление аномалий газохроматографических индексов удерживания гомологов на основании их гомологических инкрементов // *Журн. физ. химии.* 2021. Т. 95. № 8. С. 1269. <https://doi.org/10.1134/S003602442107030X>
21. *Szekely T., Nefedov O.M., Gazzo G., Shinyayav V.I., Fritz D.* Gas chromatographic investigation of the thermal decomposition of polydimethylsilylene // *Acta Chem. Acad. Sci. Hung.* 1967. V. 54. № 3—4. P. 241.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 543:556.11

ЭКСПРЕССНОЕ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛА И КРЕЗОЛОВ В ВОДЕ МЕТОДОМ ЭКСТРАКЦИОННОГО ВЫМОРАЖИВАНИЯ

© 2023 г. В. Н. Бехтерев*

*Сочинский государственный университет, инженерно-экологический факультет
ул. Пластунская, 94, Сочи, 354000 Россия*

**e-mail: vic-bekhterev@yandex.ru*

Поступила в редакцию 05.10.2022 г.

После доработки 12.11.2022 г.

Принята к публикации 12.11.2022 г.

Разработана экспрессная методика определения фенола и изомеров крезолов в питьевой, морской и загрязненной бытовой сточной воде, основанная на одностадийном извлечении аналитов с помощью экстракционного вымораживания в условиях центрифугирования пробы. В комбинации с газовой хроматографией методика обеспечивает минимальные пределы обнаружения каждого из фенолов в 10 мл воды на уровне 0.0005 мкг/мл. Продолжительность пробоподготовки не превышает 30 мин, расход экстрагента этоксиэтана 1.4 мл. В сравнении с традиционно применяемыми на этапе предварительной подготовки пробы жидкостной и твердофазной экстракцией, предложенная методика проще и более экологична. Исключены этапы фильтрования проб и обезвоживания экстрактов, минимизировано количество химической посуды.

Ключевые слова: фенолы, питьевая, морская, сточная вода, экстракционное вымораживание, крио-экстрактор, анализ.

DOI: 10.31857/S0044450223040059, **EDN:** KZDTHY

В последнее время в мире обостряется ситуация с антропогенной загрязненностью водной среды. Для оперативного выявления и локализации источников загрязнений требуется проведение большого количества исследований. В этой связи важен поиск экспрессных, надежных, недорогих способов определения примесей в воде.

Способы определения в питьевой воде низкомолекулярных фенолов должны обладать низкими пределами обнаружения в связи с их высокой токсичностью и, как следствие, низкими предельно допустимыми концентрациями (ПДК). Так, ПДК фенола в воде хозяйственно-бытового назначения в Российской Федерации составляет 0.001 мг/л [1]. Несмотря на значительный прогресс в развитии инструментальных методов анализа, при таких нормативах содержания фенолов в воде процедура анализа должна включать этап предварительного концентрирования аналитов.

Миниатюризация жидкостной экстракции начала развиваться в конце XX в. с целью оптимизации пробоподготовки в химическом анализе, уменьшения количества используемых токсичных растворителей [2]. Однако на пути развития этого направления возникли трудности, связанные, прежде всего, с обеспечением удовлетвори-

тельной воспроизводимости результатов, упрощением процедуры и снижением стоимости анализа.

Цель настоящего исследования – разработка экспрессной методики определения фенола и изомеров крезолов в воде, включая питьевую пресную, морскую, а также довольно сложный объект химического анализа – сточную бытовую канализационную воду на примере локальной очистной системы. В качестве основного метода использовали широко представленную в лабораториях газовую хроматографию (ГХ), которая является высокочувствительным, надежным, селективным аналитическим инструментом [3]. На этапе пробоподготовки применяли способ экстракционного вымораживания в режиме центрифугирования (ЭВЦ) образца, характеризующийся экспрессностью, простотой выполнения и высокой эффективностью извлечения целевых органических веществ, в том числе гидрофильных, из водных сред [4–6].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты. Использовали ГСО 7270-96 “СО состава фенола в этаноле”, СОП 030603 ER-SPH 6

“*о*-крезол”, СОП 0307-03 ER-SPH 7 “*п*-крезол”, СОП 0308-03 ER-SPH 8 “*м*-крезол”; ацетонитрил Сорт 0 (ООО “НПК Криохром”, Россия) и этоксиэтан х.ч., ТУ 2600-001-43852015-10 (ООО “Кузбассоргхим”, Россия). Все реактивы были аналитической чистоты.

Аппаратура. Для приготовления модельных и стандартных растворов органических веществ, определения массы получаемого экстракта использовали аналитические весы Mettler Toledo XS 205DU. Исследовали получаемые экстракты и стандартные смеси на газовом хроматографе Кристаллюкс-4000М (Россия) с пламенно-ионизационным детектором (ПВД) и капиллярной колонкой длиной 60 м, внутренним диаметром 0.53 мм, стационарная фаза ZB-WAX, толщина пленки 1.00 мкм (Phenomenex, США).

Методика эксперимента. Процедура проведения экстракционного вымораживания в условиях одновременного центрифугирования описана в работе [6]. Исследуемые образцы модельных водных растворов аналитов готовили добавлением к воде в стеклянной вials емк. 12 мл необходимого количества стандартного раствора аналита в ацетонитриле или этоксиэтаноле, используемых в качестве экстрагентов. Регулировали pH добавлением водного раствора серной кислоты (1 : 1). Флакон герметично закрывали завинчивающейся пробкой. Интенсивно перемешивали в течение 1 мин и помещали в ротор криоэкстрактора ЭВЦ-2 (Россия) для кристаллизации водной части образца и получения экстракта в виде незамерзающей части образца. Условия проведения процедуры ЭВЦ: температура $-(30 \pm 2)^{\circ}\text{C}$, скорость вращения ротора 2000–4000 об./мин (центробежное ускорение 400–1650 g), продолжительность процедуры 25 мин. После этапа ЭВЦ верхний, жидкий органический слой (экстракт) отделяли декантацией, взвешивали и подвергали ГХ-анализу. При необходимости концентрировали упариванием на воздухе при комнатной температуре, контролируя степень концентрирования взвешиванием экстракта на аналитических весах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Аналізу имеющегося арсенала методов экстракции и пробоподготовки в доступной научной литературе посвящено достаточное количество обзоров [2, 7–11]. Используемые в настоящее время в Российской Федерации официальные методики газохроматографического определения фенолов в водах базируются на их предварительном концентрировании жидкостной экстракцией этилацетатом в нативном виде с промежуточной процедурой реэкстракции [12] или после дериватизации путем бромирования [13]. При этом для загрязненных сточных вод этапу экстракции предшествует стадия перегонки с паром. Вместе с

тем нельзя не согласиться с авторами работы [14], утверждающими, что многостадийность пробоподготовки существенным образом отражается на точности определения, особенно при низких содержаниях аналитов. Следует добавить, что бромирование фенолов [13] или переводение их в ацетильные производные [14] также повышает риск роста погрешности результатов анализа, поскольку не исключено образование побочных продуктов реакции и изомеров. На направление и глубину протекания дериватизации влияет множество факторов, в том числе температура, качество реактивов, матрица пробы и прочее. Кроме того, поскольку при этом применяется большое количество лабораторной посуды, трудоемкость данного этапа дополнительно связана и с необходимостью поддержания ее чистоты. Указанные недостатки снижают производительность лаборатории.

Официальный метод [15], использующий твердофазную экстракцию (ТФЭ), еще более трудоемок. Для проведения одного анализа, включая пробоподготовку и получасовое хроматографирование (ВЭЖХ), требуется 15 ч. Необходима предварительная мембранная фильтрация пробы, оптимизация работы ТФЭ-картриджей, так как их свойства зависят от партии поставки и от ионного фона матрицы пробы, присутствия соэкстрактивных веществ [16]. Существенным недостатком данного способа является и тот факт, что применяемые ТФЭ-картриджи, мембранные фильтры являются одноразовым расходным материалом. Утилизация подобных отходов после использования строго регламентирована, что в совокупности с их ценой отражается на стоимости исследований. Кроме того, это не соответствует принципам “зеленой химии”.

Принимая во внимание перечисленные выше недостатки официальных методов, а также опыт использования ЭВЦ в качестве этапа пробоподготовки при определении органических кислот [17] и оснований [6], мы предложили новый способ определения фенолов в воде. На этапе изолирования аналитов из водной матрицы применяли ЭВЦ. К настоящему времени способ ЭВЦ реализован в серийно выпускаемом криоэкстракторе ЭВЦ-2 (ООО НПФ “Метахром”/ООО “Химбиомед”, Россия).

При оптимизации процедуры пробоподготовки в качестве сосудов, в которых выполняли ЭВЦ, использовали стеклянные многоразовые вials емк. 12 мл (диаметр 18.5 мм, высота 66 мм) типа LLG-Screw Neck Vials for Storage Purposes/ND15 (National Scientific, кат. № 7.616655) с плоским дном. В настоящем исследовании применяли ротор с посадочными отверстиями именно под указанные вials. Однако криоэкстрактор комплектуется также ротором, позволяющим ис-

пользовать пенициллиновые флаконы. Установлено, что смена ротора и переход от использования виал к применению пенициллиновых флаконов не отражаются на эффективности экстракции изучаемых аналитов в диапазоне скоростей вращения ротора от 2000 до 4000 об./мин и температуре экстракции $30 \pm 2^\circ\text{C}$.

Ранее полученные результаты извлечения органических кислот и фенолов из воды с помощью экстракционного вымораживания (ЭВ) без режима центрифугирования показали, что наиболее эффективными экстрагентами для таких гидрофильных аналитов являются полярные растворители, например ацетонитрил, диэтиловый эфир, спирты [18, 19]. Однако одним из важных требований к экстрагентам в случае применения газовой хроматографии на заключительном этапе анализа является отсутствие воды в анализируемых экстрактах, негативно влияющей на работоспособность капиллярной колонки.

Теоретические основы метода ЭВ базируются на большом массиве экспериментальных данных. Предложен критерий оценки эффективности экстракции целевых компонентов из воды данным методом [6, 17–19] – коэффициент распределения аналита $*K_{\text{eq}}$ между кристаллической поверхностью образующегося льда и добавленным незамерзающим растворителем (жидкая фаза). В модели ЭВ это угловой коэффициент линейной зависимости концентрации аналита $c_{\text{орг}}$ в получаемом экстракте от величины $M_0/V_{\text{экстр}}$, где M_0 это масса аналита в исходной пробе, а $V_{\text{экстр}}$ – объем экстрагента [6, 17–19]. Показано, что эта величина является индивидуальным параметром аналита, зависящим от его физико-химических свойств, а также природы экстрагента. Чем больше $*K_{\text{eq}}$, тем выше эффективность извлечения аналита из воды. Кроме того, при использовании ацетонитрила $*K_{\text{eq}}$ практически равен степени извлечения аналита из воды, поскольку ее растворимость в данном экстрагенте при -30°C не превышает 4% [20].

Установили, что при экстракционном вымораживании изучаемых аналитов в ацетонитрил в условиях центрифугирования пробы коэффициент $*K_{\text{eq}}$ составил для фенола 0.95 ± 0.09 , *о*-крезола 1.0 ± 0.1 , *м*-крезола 0.88 ± 0.09 и *п*-крезола 1.0 ± 0.1 . Полученные параметры в пределах погрешности совпадают с ранее установленными в условиях отсутствия воздействия поля центробежных сил [19]. Таким образом, центрифугирование образца не влияет на эффективность экстракционного вымораживания фенолов в ацетонитрил. Подобное поведение аналитов выявлено для наиболее гидрофильных членов гомологического ряда одноосновных карбоновых кислот: коэффициент $*K_{\text{eq}}$ возрастал с переходом в режим центрифугирования во время экстракционного вымораживания,

лишь начиная с масляной кислоты и далее [17]. Кроме того, коэффициент $*K_{\text{eq}}$ практически не изменялся для уксусной и пропионовой кислот [17]. Вместе с тем режим ЭВЦ дает возможность снизить объемную долю экстрагента в исходной смеси в случае ацетонитрила до 6%, что позволяет достичь 16-кратного концентрирования фенолов в экстракте в результате одноразовой процедуры экстракции.

Однако, как показал эксперимент, при такой степени концентрирования с учетом применения ГХ-ПИД предел определения указанных фенолов в воде составляет 0.006 мг/л, что превышает их ПДК [1]. Предел определения не удалось снизить и путем объединения параллельно получаемых ацетонитрильных экстрактов нескольких проб с последующим упариванием (в криоэкстракторе ЭВЦ-2 восемь посадочных мест).

Поскольку в экстракте после процедуры ЭВЦ содержится до 4% воды, удаление ацетонитрила ведет к увеличению ее доли в экстракте. Это, в свою очередь, сопровождается существенным уширением фронта растворителя на хроматограмме и ростом фонового сигнала детектора (рис. 1), что в итоге снижает чувствительность детектирования аналитов.

В качестве другого экстрагента опробовали этоксиэтан. При -30°C после ЭВЦ в нем содержится значительно меньше воды, поскольку даже при комнатной температуре растворимость воды в эфире не превышает 2.7% [21]. Кроме того, время удерживания эфира (~ 2.85 мин) в хроматографической колонке меньше, чем ацетонитрила (~ 2.93 мин), что заметно улучшает условия детектирования фенолов. Как видно из рис. 2, к моменту их появления на хроматограмме фронт растворителя (эфира) фактически снижается до фонового уровня. Кроме того, угловой коэффициент линейной зависимости концентрации аналита в экстракте ($c_{\text{орг}}$) от величины $M_0/V_{\text{экстр}}$ при ЭВЦ, характеризующий эффективность экстракции, при замене ацетонитрила на эфир существенно возрастает. Для фенола коэффициент $*K_{\text{eq}}$ достиг значения 2.89, а в случае изомеров крезоло для *о*-крезола – 2.82, *м*-крезола – 2.68, *п*-крезола – 2.61. Полученный результат, по-видимому, обусловлен способностью диэтилового эфира, который, как известно, обладает заметными свойствами основания Льюиса, образовывать с фенолами как с кислотами оксониевые соли за счет межмолекулярной водородной связи. Свидетельство этому – bathochromный сдвиг полосы поглощения при 205 нм в УФ-спектре фенола в растворе этоксиэтана [22]. Благодаря этому повышается эффективность экстракции: коэффициент распределения аналита $*K_{\text{eq}}$ между получаемым жидким экстрактом и поверхностью образующегося льда

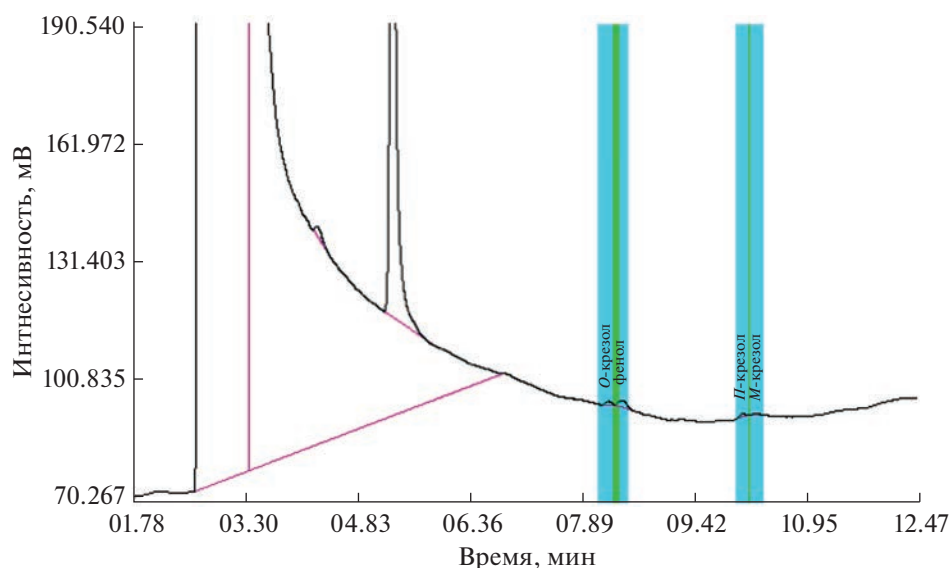


Рис. 1. Хроматограмма объединенного ацетонитрильного экстракта четырех проб водопроводной воды с добавкой фенолов (содержание каждого 0.01 мкг/мл), полученного способом однократного ЭВЦ и дополнительно упаренного в 4.5 раза. Условия пробоподготовки: объем пробы 11 мл, объем экстрагента 0.7 мл, центрифугирование в течение 25 мин при 4000 об/мин и $-(30 \pm 2)^\circ\text{C}$.

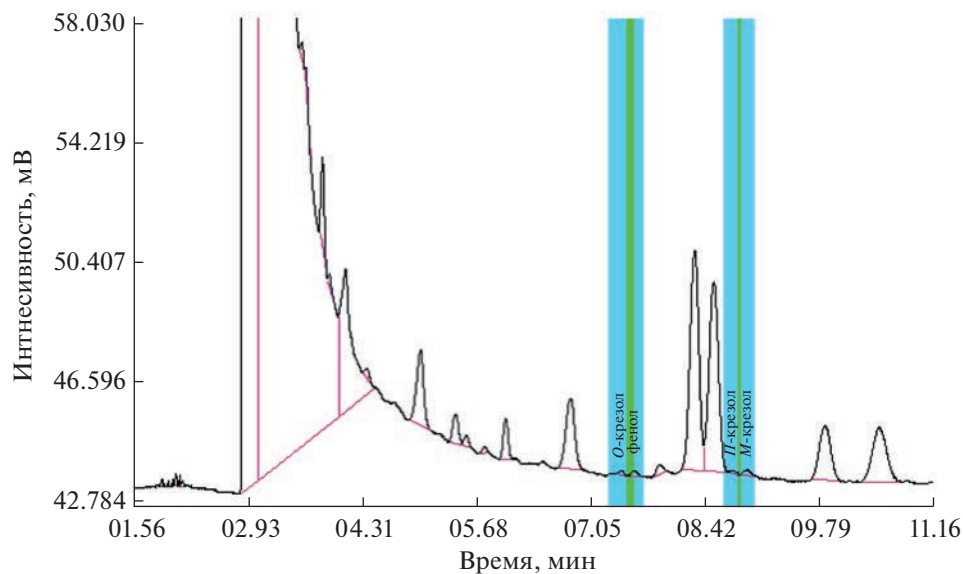


Рис. 2. Хроматограмма эфирного экстракта, полученного однократной процедурой ЭВЦ из морской воды с добавкой фенолов (содержание каждого 0.001 мкг/мл), дополнительно упаренного в 3.3 раза. Условия пробоподготовки: объем пробы 10 мл, объем экстрагента 1.4 мл, центрифугирование в течение 25 мин при 2000 об./мин и $-30 \pm 2^\circ\text{C}$.

при переходе от ацетонитрила к эфиру возрастает практически в три раза.

Следует отметить, что именно значительное повышение эффективности ЭВЦ при замене ацетонитрила этоксиэтаном дало возможность достичь предела определения фенолов в воде на уровне 0.0025 мг/л в результате однократной процедуры экстракции из объема пробы 10 мл в 1.4 мл эфира (табл. 1). Кроме того, за счет одностадий-

ности и отсутствия каких-либо дополнительных операций во время процедуры пробоподготовки (фильтрования, осушки экстрактов и пр.) обеспечивается хорошая повторяемость результатов анализа. Относительное стандартное отклонение не превышает 20%. Получаемый объем эфирного экстракта составляет более 0.25 мл (масса 0.194 ± 0.008 г), что позволяет дополнительно его сконцентрировать путем упаривания, контролируя

Таблица 1. Предел определения фенола в воде в результате однократного экстракционного вымораживания в условиях центрифугирования образца (ЭВЦ) в комбинации с газовой хроматографией

Вода	Соотношение вода : этоксиэтан (мл)	Масса экстракта, г	Предел определения в воде, $c_{\text{н вод}}$, мг/л	Стандартное отклонение, $s(x)$ ($n = 8$)
Водопроводная (минерализация 0.1 г/л)	10 : 1.4	0.194 ± 0.009	0.0025	± 0.0003
	10 : 1.0	0.08 ± 0.061	0.002	± 0.0016
	10 : 0.7	0	—	—
Морская (минерализация 16.1 г/л)	10 : 1.4	0.34 ± 0.042	0.003	± 0.0005
	10 : 1.0	0.092 ± 0.075	0.002	± 0.0017
	10 : 0.7	0.012 ± 0.009	0.001	± 0.0008
Сточная, локальной очистной системы	10 : 1.4	0.31 ± 0.041	0.005	± 0.0007

Примечание: температура экстракции $-(30 \pm 2)^\circ\text{C}$, скорость вращения ротора 2000 об/мин, продолжительность процедуры 25 мин.

кратность взвешиванием на аналитических весах. В итоге установили, что разработанный способ после упаривания экстракта обеспечивает предел определения фенола и изомеров крезоло в воде 0.0005 мг/л (для каждого аналита в отдельности). Достигнутый результат открывает перспективы применения разработанного метода в целях оперативного санитарно-гигиенического контроля качества воды.

Особенно это актуально при мониторинге бытовых сточных вод. Помимо огромной массы растворенных антропогенных органических и неорганических веществ, они содержат коллоидные частицы и биологические объекты (бактерии, грибки и пр.). Все это усложняет применение жидкостной и твердофазной экстракции для предварительной подготовки проб к анализу инструментальными методами. Метод ЭВЦ обеспечивает возможность напрямую, без каких-либо предварительных манипуляций анализировать такого рода пробы (см. фотоизображение исходной пробы и получаемого экстракта на рис. 3). Исследование образцов сточных вод методом добавок показало, что достигнутый предел определения фенолов составляет 0.005 мг/л (табл. 1). Его можно снизить путем контролируемого взвешиванием концентрирования экстракта, объем которого составляет более 0.4 мл (масса более 0.3 г.). Как видно из хроматограммы ЭВЦ-экстракта реальной пробы сточной воды локальной очистной системы одной из минигостиниц г. Сочи, в ней присутствуют изучаемые фенолы в заметных количествах (рис. 4). Наличие множества других хроматографических пиков на рис. 4 свидетельствует о значительной загрязненности пробы другими веществами, в том числе органическими. Вместе с тем из рис. 4 следует, что выбранные условия хроматографирования обеспечивают

возможность надежного детектирования данных аналитов.

Установлено, что минерализация при переходе от водопроводной пресной воды (до 1 г/мл) к морской (14–16 г/л) существенно не влияет на предел определения фенолов (табл. 1). Обнаружен даже некоторый высаливающий эффект, поскольку при прочих равных условиях (объем пробы 10 мл, объем этоксиэтана 1.4 мл, скорость вращения ротора 2000 об/мин) масса получаемого экстракта составила 0.341 ± 0.042 г. Из табл. 1 следует также, что предлагаемый способ определения изучаемых фенолов в питьевой, морской воде из Черного моря (бассейн дельфинария) с уменьшением доли экстрагента в смеси дает возможность их детектирования на уровне 0.001 мг/л, т.е. на уровне ПДК. Однако за счет роста вариабельности массы (объема) получаемого экстракта снижается воспроизводимость результатов анализа, увеличивается стандартное отклонение.

Таким образом, предложена новая экспрессная методика определения фенола и изомеров крезоло в воде, в том числе питьевой водопроводной и морской, а также в бытовых сточных водах, основанная на однократном извлечении аналитов с помощью ЭВЦ в диэтиловый эфир. Схема анализа представлена на рис. 5. Процедура исследования методом добавок включает следующие этапы:

1) в первую виалу (проба) помещают 10 мл пробы воды, добавляют 1.4 мл этоксиэтана и 0.025 мл 50%-ной серной кислоты в воде;

2) во вторую виалу (проба с добавкой) помещают 10 мл пробы воды, добавляют 1.4 мл стандартного раствора фенолов в этоксиэтаноле и 0.025 мл 50%-ной серной кислоты в воде;

3) плотно закрыв виалы завинчивающимися пробками, после одномоментного интенсивного

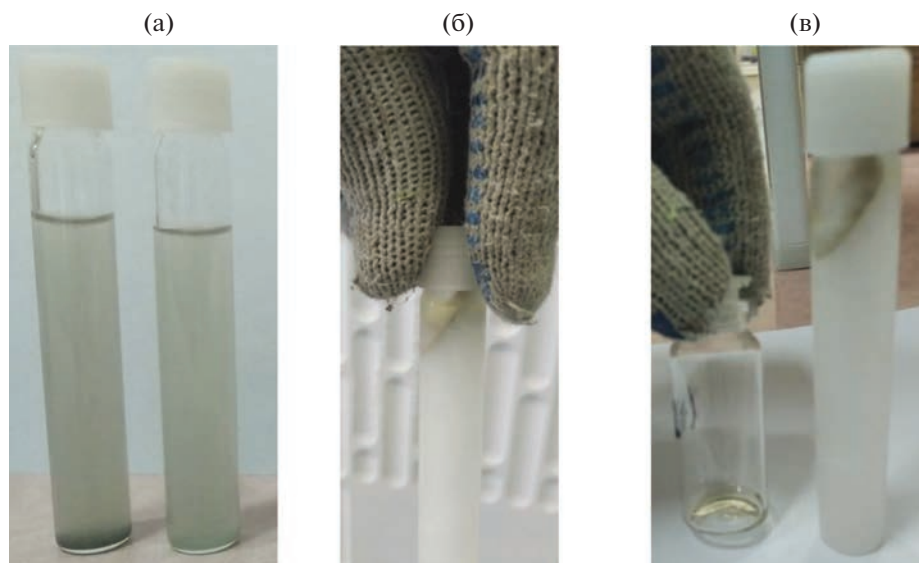


Рис. 3. Фотоизображение образца пробы бытовых сточных вод локальной очистной системы в ходе этапа пробоподготовки с помощью ЭВЦ перед ГХ-анализом. (а) — исходные пробы бытовых сточных вод локальной очистной системы гостиницы; (б) — проба после этапа ЭВЦ; (в) — отделенный эфирный экстракт (слева) и кристаллическая часть пробы (справа) после ЭВЦ.

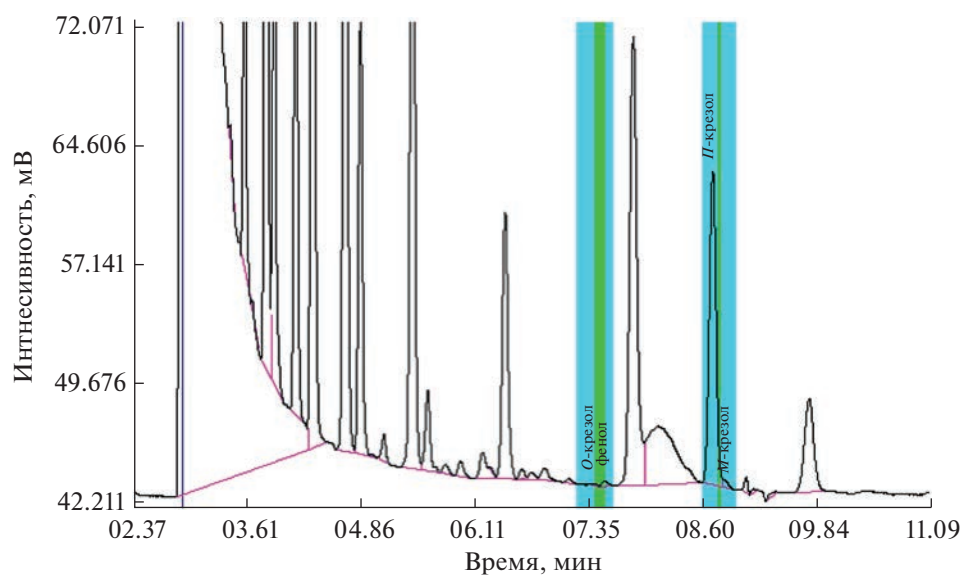


Рис. 4. Хроматограмма эфирного экстракта пробы бытовых стоков локальной очистной системы одной из мини-гостиниц г. Сочи, полученного методом однократного ЭВЦ. Условия пробоподготовки: объем пробы 10 мл, объем экстрагента 1.4 мл, центрифугирование в течение 25 мин при 2000 об/мин и $-(30 \pm 2)^\circ\text{C}$.

встряхивания их помещают диаметрально в ротор криоэкстрактора;

4) проводят экстракционное вымораживание в условиях центрифугирования при скорости вращения ротора 2000 об./мин и -30°C в течение 25 мин;

5) по окончании ЭВЦ образовавшиеся жидкие экстракты отделяют путем декантации в пени-

циллиновые флаконы, оценивая взвешиванием их количества;

6) проводят ГХ-определение фенолов в полученных экстрактах, при необходимости концентрируют упариванием, контролируя массу экстрактов взвешиванием. Содержание фенолов в пробе $c_{\text{пр}}$ (мкг/мл) рассчитывают в соответствии с известным алгоритмом метода добавок:

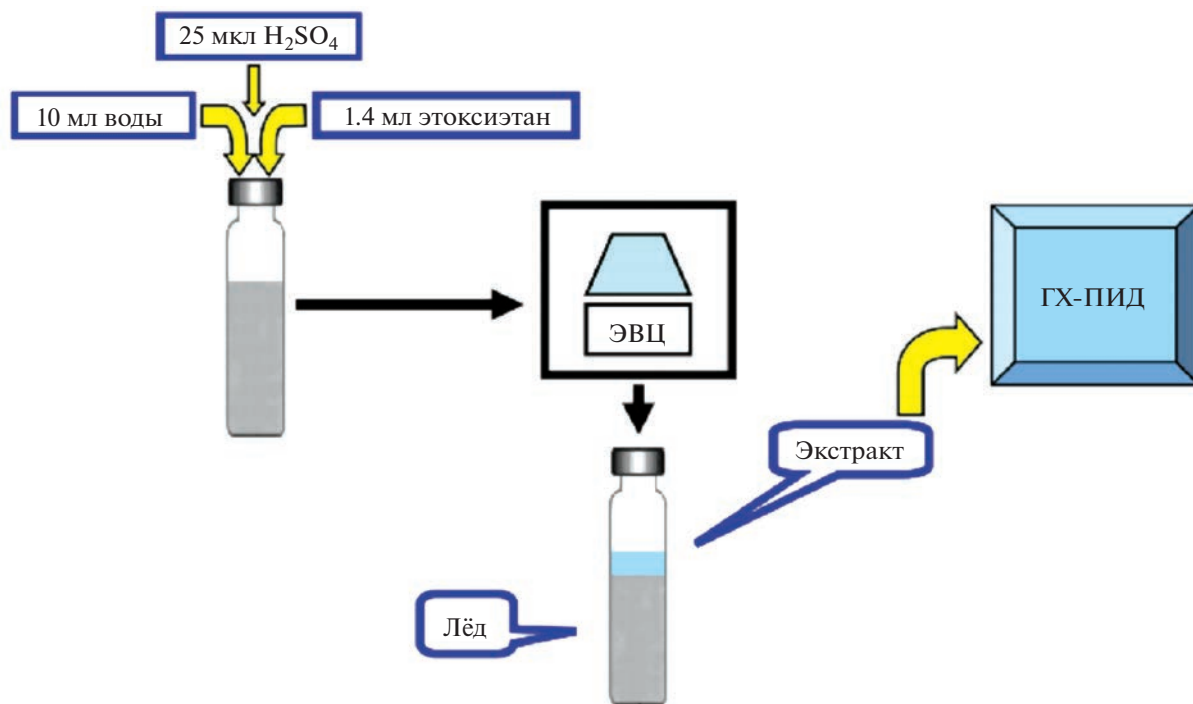


Рис. 5. Схема газохроматографического определения фенолов в воде методом экстракционного вымораживания.

$$c_{\text{пр}} = S_{\text{пр}} m_{\text{доб}} / [(S_{\text{доб}} - S_{\text{пр}}) V_{\text{пр}}], \quad (1)$$

где $m_{\text{доб}}$ — масса добавки аналита в пробу, мкг; $S_{\text{пр}}$ — площадь хроматографического пика аналита на хроматограмме экстракта пробы; $S_{\text{доб}}$ — площадь хроматографического пика аналита на хроматограмме экстракта пробы с добавкой аналита; $V_{\text{пр}}$ — объем анализируемой пробы (10 мл), взятой для ЭВЦ, мл.

Общая продолжительность анализа, включая этап хроматографирования экстрактов (ГХ-ДИП), составляет менее 1 ч, в том числе продолжительность пробоподготовки не превышает 30 мин. Метод обеспечивает возможность определения указанных фенолов на уровне ПДК в питьевой воде.

Преимущества предложенной методики:

- 1) пробоподготовка осуществляется в одну стадию без каких-либо дополнительных процедур (фильтрация проб, осушка экстрактов и прочее);
- 2) процедура проста, отсутствуют особые требования к квалификации специалиста;
- 3) методика универсальна, так как последовательность операций одинакова для питьевой, морской воды, бытовой сточной воды;
- 4) низкая стоимость в отношении расходных материалов, химической посуды и реактивов (необходимый объем экстрагента диэтилового эфира 1.4 мл на пробу, не используются дополнитель-

ные материалы, в том числе осушители, фильтры и прочее);

5) методика отвечает требованиям “зеленой химии” ввиду того, что не используются полимерные и иные специально утилизируемые материалы, а также минимизирован объем экстрагента;

6) подготовка проб к ГХ-ДИП-исследованию проводится при отрицательных температурах, что способствует улучшению условий труда и соблюдению норм техники безопасности, так как значительно уменьшается летучесть растворителя и извлекаемых токсичных веществ.

Предложенная методика характеризуется экспрессностью и высокой воспроизводимостью результатов, что позволит в перспективе применять ее в мониторинге качества воды не только в отношении фенолов, но и других экологически опасных органических веществ. Важно также, что поставленная в работе задача решена с применением специально разработанного для пробоподготовки устройства — криоэкстрактора, серийный выпуск которого начат в 2021 г. в России.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования: Гигиенические нормативы. ГН 2.1.5.1315-03. М.: Российский регистр потенциа-

- но опасных химических и биологических веществ МЗ РФ, 2003. 154 с.
2. Дмитриенко С.Г., Аяри В.В., Горбунова М.В., Толмачева В.В., Золотов Ю.А. Гомогенная жидкостная микроэкстракция органических соединений // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 11. С. 963.
 3. 100-лет хроматографии / Отв. ред. Руденко Б.А. М.: Наука, 2003. 739 с.
 4. Бехтерев В.Н. Способ извлечения органических веществ из водных сред экстракционным вымораживанием в поле центробежных сил. Патент РФ на изобретение № 2564999. Заяв. 11.09.2015, опубл. 10.10.15, бюл. № 28, приоритет 14.04.2014.
 5. Bekhterev V.N. A method of recovery of organic substances from aqueous media by freeze-out extraction under the action of centrifugal force. Patent EPO №3357873. 2019. European Patent Bulletin. № 45. 06.11.2019. P. 940.
 6. Бехтерев В.Н. Экстракционное вымораживание с центрифугированием – новая технология пробоподготовки в химическом анализе на примере органических оснований // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 9. С. 859.
 7. Koning S., Janssen H.-G., Brinkman U.A.Th. Modern methods of sample preparation for GC analysis // Chromatographia. 2009. V. 69. № 1. P. 33.
 8. Raynie D.E. Modern extraction techniques // Anal. Chem. 2010. V. 82. № 12. P. 4911.
 9. Ballesteros-Gomez A. Rubio S. Recent advances in environmental analysis // Anal. Chem. 2011. V. 83. № 12. P. 4579.
 10. Цизин Г.И. Развитие методов концентрирования микрокомпонентов в России (1991–2010 гг.) // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66. № 11. С. 1135. (Tsysin G.I. Method of the preconcentration of trace components: Development in Russia (1991–2010) // J. Anal. Chem. 2011. V. 66. № 11. P. 1020.).
 11. Федотов П.С., Малофеева Г.И., Савонина Е.Ю., Спиваков Б.Я. Твердофазная экстракция органических веществ: нетрадиционные методы и подходы // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 9. С. 163.
 12. Методика измерений массовой концентрации летучих фенолов в питьевых, поверхностных подземных пресных и сточных водах газохроматографическим методом. ПНД Ф 14.1:2:3:4.244-2007 (ФР.1.31.2007.03818). М.: ФБУ “ФЦАО”, 2011. 16 с.
 13. Методика измерений массовой концентрации фенола в пробах питьевых, природных и сточных водах методом газожидкостной хроматографии. ПНД Ф 14.1:2:4.177-02 (ФР.1.31.2007.03818). М.: ФБУ “ФЦАО”, 2011. 18 с.
 14. Кириченко В.Е., Первова М.Г., Пашкевич К.И., Назаров А.С. Определение фенолов в воде методами газовой хроматографии в виде ацетильных производных // Аналитика и контроль. 2001. Т. 5. № 1. С. 70.
 15. Массовая концентрация фенолов в водах. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением твердофазной экстракции. Руководящий документ РД 52.18.750-2010. Обнинск: Министерство природных ресурсов и экологии. Росгидромет, 2011. 47 с.
 16. Зайцев В.Н., Зуй М.Ф. Твердофазное микроэкстракционное концентрирование // Журн. аналит. химии. 2014. Т. 69. № 8. С. 1.
 17. Бехтерев В.Н. Экстракционное вымораживание одноосновных карбоновых кислот из воды в ацетонитрил в условиях действия центробежных сил // Журн. физ. химии. 2016. Т. 90. № 10. С. 1558.
 18. Bekhterev V.N. Extractive freezing-out in the analysis of organic compounds in the aqueous media // Mendeleev Communications. 2007. V. 17. № 4. P. 241.
 19. Бехтерев В.Н. Выделение фенолов из воды экстракционным вымораживанием // Журн. аналит. химии. 2008. Т. 63. № 10. С. 1045.
 20. Schneider G.M. Aqueous solutions at pressures up to 2 GPa: Gas–gas equilibria, closed loops, high-pressure immiscibility, salt effects and related phenomena // Phys. Chem. Chem. Phys. 2002. V. 4. P. 845.
 21. Rowley H.H., Reed Wm.R. Solubility of water in diethyl ether at 25° // J. Am. Chem. Soc. 1951. V. 73. № 6. P. 2960.
 22. Dearden J.C., Forbs W.F. Light absorption studies. Part XIV. The ultraviolet absorption spectrum of phenols // Can. J. Chem. 1959. V. 37. P. 1294.

УДК 543.544.33

ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАРБАМАЗЕПИНА, ОКСКАРБАЗЕПИНА, ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПРОДУКТОВ ИХ ДЕГРАДАЦИИ В ВЕЩЕСТВЕННЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВАХ И В ТРУПНОМ МАТЕРИАЛЕ ПЕЧЕНИ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ГХ-МС

© 2023 г. А. В. Пирогов^{a, *}, Н. А. Гандлевский^a, А. А. Васильева^a, С. С. Барсегян^b, А. Е. Носырев^c

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

^bРоссийский центр судебно-медицинской экспертизы Министерства здравоохранения
Российской Федерации (РЦСМЭ Минздрава России)
ул. Поликарпова, 12/13, Москва, 125284 Россия

^cПервый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Москва, 119048 Россия

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

Поступила в редакцию 20.11.2022 г.

После доработки 23.01.2023 г.

Принята к публикации 24.01.2023 г.

Работа посвящена поиску и выбору условий пробоподготовки, определения карбамазепина и окскарбазепина и идентификации продуктов их метаболизма и деградации в печени (*post mortem*) человека и в вещественных доказательствах методом хромато-масс-спектрометрии. Разработан подход к пробоподготовке карбамазепина и окскарбазепина методом QUECHERS. В качестве внутреннего стандарта предложен амитриптилин. Исследованы продукты деградации карбамазепина и окскарбазепина в модельных растворах при щелочном и кислотном гидролизе и окислении. Идентифицировано 14 метаболитов и продуктов деградации. Определены основные аналитические характеристики разработанного способа определения. Пределы обнаружения составляют 0.1 и 0.2 мкг/г для карбамазепина и окскарбазепина соответственно. Установлено соответствие разработанного способа требованиям Руководства по валидации Российского Центра судебно-медицинской экспертизы.

Ключевые слова: карбамазепин, окскарбазепин, ГХ-МС-определение.

DOI: 10.31857/S0044450223060099, **EDN:** DWRVPO

Карбамазепин (CBZ) и окскарбазепин (ОХС) – противоэpileптические лекарственные средства из группы производных карбоксамида, обладающие схожими механизмами действия. Метаболиты ОХС оказывают гораздо меньшее токсическое воздействие на печень [1]. CBZ и ОХС не входят в перечень наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации, что делает лекарственные препараты доступными для общего потребления. Противоэpileптические препараты ОХС и CBZ вызывают научный интерес в судебной медицине. Судебно-токсикологические исследования смертей проводятся, если есть подозрения, что смерть связана с передозировкой лекарственных или наркотических препаратов. Предоставление полного клинического анамнеза позволяет предсказать вероятные источники отравления и значительно упростить интерпрета-

цию любых аналитических результатов. Изучение состава продуктов деградации CBZ и ОХС позволит определить концентрации исследуемых веществ в организме человека на момент смерти. Дифференциальная диагностика CBZ и ОХС особенно актуальна в случаях термического, микробиологического разложения биологического материала. Таким образом, необходима разработка надежного метода одновременного обнаружения и определения фармацевтических препаратов CBZ, ОХС, продуктов их метаболизма и деградации в биологическом материале и в вещественных доказательствах.

Метаболизм карбамазепина и окскарбазепина. По данным [2, 3], при попадании в организм CBZ преимущественно метаболизируется в печени по трем основным направлениям (рис. 1). Основным метаболическим путем, катализируемый ферментами цитохрома P450, CYP3A4 и CYP2C8 [4] – фор-

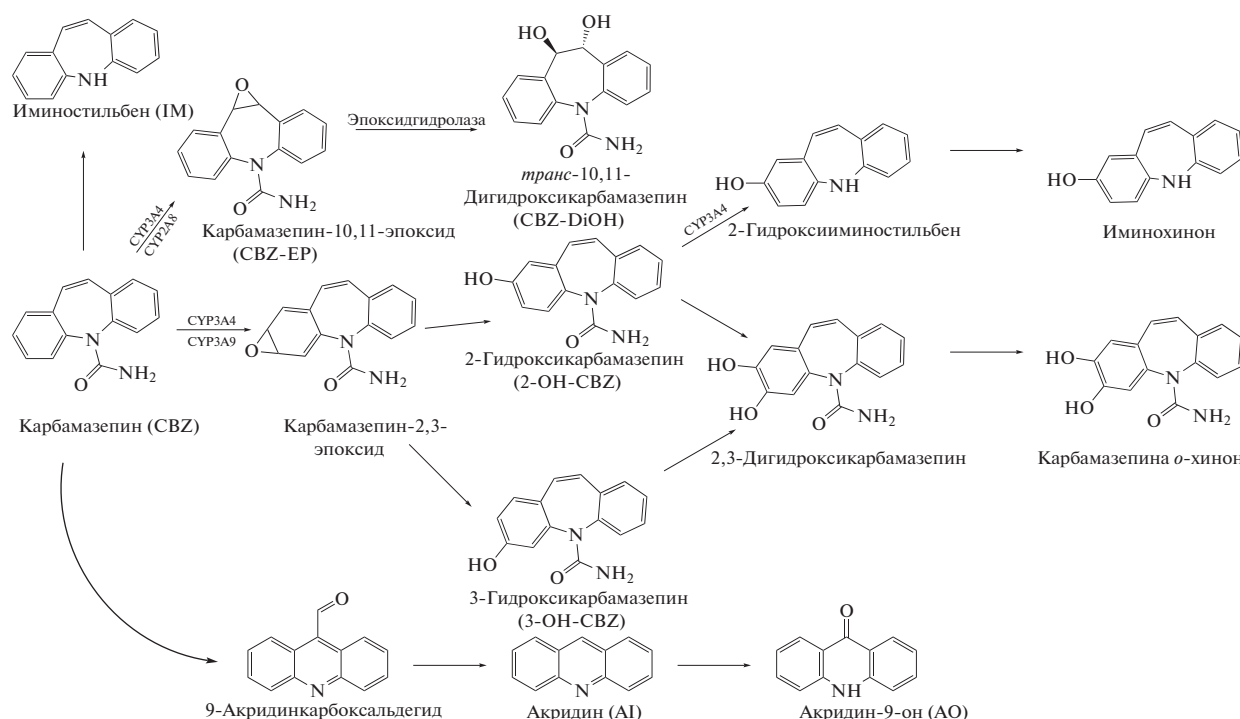


Рис. 1. Предполагаемые основные пути метаболизма карбамазепина в организме человека и ферменты, катализирующие реакции.

мирование карбамазепин-10,11-эпоксида (**CBZ-EP**). CBZ-EP под действием фермента эпоксигидролазы [5] почти полностью превращается в *транс*-10,11-дигидрокси-10,11-дигидрокарбамазепин (**CBZ-DiOH**), который выводится из организма в основном в неконъюгированной форме в составе мочи [6]. В ранних исследованиях предполагали, что CBZ-EP играет ключевую роль в побочных эффектах, вызванных применением препарата CBZ, особенно в тяжелых кожных реакциях, таких как синдром Стивенса-Джонсона или токсических эпидермолизных некрозах. Однако в работе [7] доказано, что побочные эффекты продолжают возникать и в отсутствие CBZ-EP. Предполагают [8], что в качестве реактивных метаболитов выступают второстепенные метаболиты, продуцируемые альтернативными путями метаболизма. Два других метаболических пути в печени — это образование гидроксилированных соединений, 2-гидроксикарбамазепина (**2-OH-CBZ**) и 3-гидроксикарбамазепина (**3-OH-CBZ**), и превращение CBZ в иминостильбен (**IM**) [2, 3, 9]. Карбамазепин метаболизируется до 2-OH-CBZ и 3-OH-CBZ несколькими ферментами цитохрома P450, включая CYP3A4 и CYP2C9 [10]. Гидроксильные метаболиты далее переходят в 2,3-дигидрокси-карбамазепин, который посредством неферментативной перегруппировки превращается в метаболит CBZ *о*-хинон. 2-Гидроксикарбамазепин метаболизируется под действием фермента CYP3A4 до

2-гидроксииминостильбена, который легко окисляется до иминохинонов [4].

Помимо печени в окислении CBZ участвуют лейкоциты, наряду с их иммунными свойствами они преобразуют [5] CBZ под действием миелопероксидазы в ряд метаболитов (рис. 1), в основном в промежуточный 9-акридинкарбоксальдегид, далее следуют последовательные превращения в акридин (**AI**) и акридин-9-он (**AO**) [11].

Противоэпилептический препарат ОХС, 10-кето аналог CBZ, имеет химическое и терапевтическое сходство с CBZ [8] (рис. 2). В печени ОХС быстро восстанавливается до фармакологически активного метаболита 10-гидрокси-10,11-дигидро-CBZ (**10-OH-CBZ**) под действием альдокеторедуктазы [12]. Суммарная концентрация 10-OH-CBZ в плазме крови в 15 раз выше, чем концентрация ОХС. Поскольку атом углерода карбонильной группы является прохиральным центром, то образование 10-OH-CBZ стереоспецифично. В организме человека ОХС восстанавливается до (*S*)-энантиомера (80%) и (*R*)-энантиомера (20%) 10-OH-CBZ [13]. Оба энантиомера имеют одинаковую противоэпилептическую активность. 10-Гидрокси-10,11-дигидрокарбамазепин, сопряженный с глюкуроновой кислотой, выводится в составе мочи. В моче 10-OH-CBZ и его глюкурониды составляют более 80% принятой дозировки, тогда как ОХС и его конъюгаты составляют ~10%. Незначительные количества ОХС (4%) окисляются до фармакологически не-

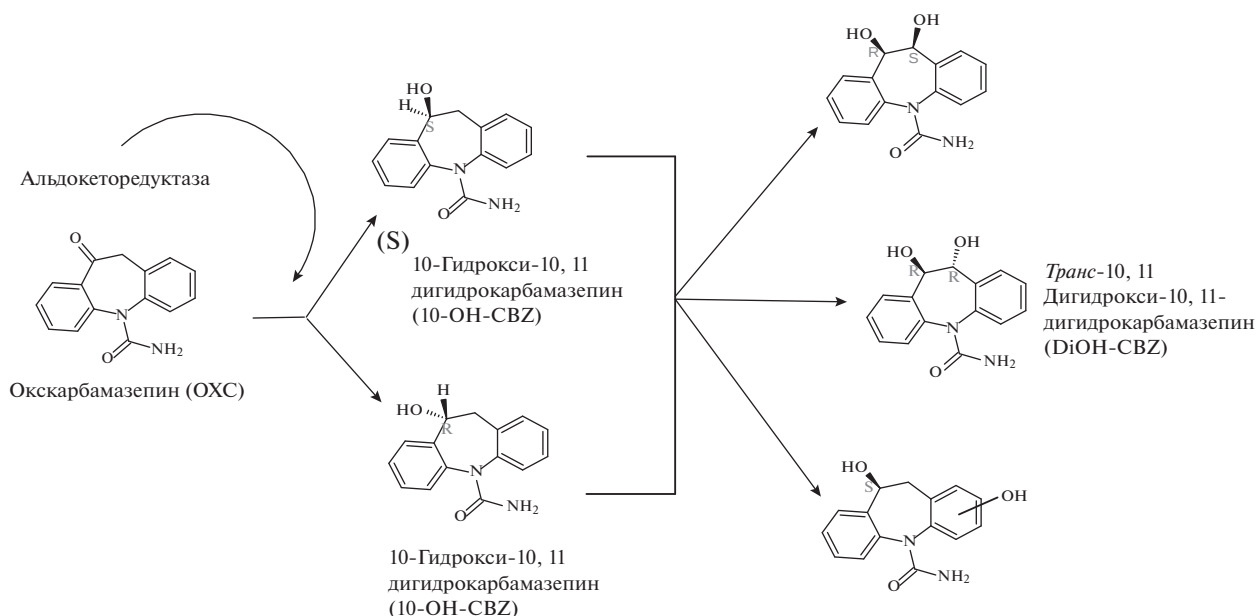


Рис. 2. Предполагаемые основные пути метаболизма окскарбазепина в организме человека и ферменты, катализирующие реакции.

активного CBZ-DiOH [14], общего метаболита с CBZ.

Другим потенциально общим метаболитом является 3-ОН-CBZ, обнаруженный в плазме пациентов, получавших ОХС, но ферментная система, участвующая в процессе образования 3-ОН-CBZ из ОХС, пока не идентифицирована [15]. Аналогично карбамазепину ОХС вызывает нежелательные побочные эффекты, но с гораздо меньшей частотой и тяжестью [8].

Методы определения карбамазепина и окскарбазепина. Определение CBZ и ОХС в образцах *post mortem* биологических тканей и жидкостей человека является важнейшей задачей. Одной из причин интереса судебно-медицинской токсикологии к противосудорожным препаратам является внушительное число внезапных необъяснимых смертей среди людей, больных эпилепсией и принимающих эти препараты [16].

Усовершенствованные аналитические методы с удовлетворительными чувствительностью и селективностью, основанные на хроматографическом разделении, имеют преимущества по сравнению с рутинными иммунологическими методами за счет снижения количества ложноположительных результатов [17]. По-видимому, хроматографические методы являются лучшим вариантом для токсикологического анализа, так как они обеспечивают как идентификацию, так и определение аналитов [18].

Несмотря на то, что лекарственные и наркотические препараты легко обнаруживаются в крови благодаря современным чувствительным мето-

дам, с точки зрения анализа образцов *post mortem* печень является чрезвычайно ценной тканью, так как концентрации веществ в печени относительно стабильны после смерти, что важно при интерпретации результатов судебно-химического исследования. Единственный существенный недостаток печени как объекта исследования — значительное содержание в ней соэкстрактивных веществ на этапе пробоподготовки, гораздо большее, чем в крови. Чтобы свести к минимуму матричный эффект при подготовке образцов ткани печени, необходим этап очистки от сопутствующих компонентов [19].

Предложено множество подходов и способов определения CBZ и ОХС [20–26]. В рамках данной статьи ограничимся обзором только методов газовой хроматографии. Газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ-МС) представляет собой надежный метод, а приборы доступны в большинстве судебно-медицинских лабораторий по всему миру. Метод обеспечивает специфичность и чувствительность и в комбинации с использованием токсикологических баз данных позволяет получить информацию о структуре аналитов.

Известно, что при попадании в газовый хроматограф CBZ претерпевает термодеграцию в испарителе и образует иминостильбен и 9-метилкридин. В обзоре [27] методы определения CBZ разделили на три категории: методы, в которых подбирают условия, исключая термодеграцию в испарителе; методы, в которых образуются стабильные производные; методы, в кото-

рых CBZ полностью превращается в IM. Совместно с CBZ часто определяют и метаболиты. Карбамазепин метаболизируется до стабильного CBZ-EP, который легко обнаруживается в биологических жидкостях и тканях человека в значительных концентрациях. В тех же условиях CBZ-EP перегруппировывается в 9-акридинкарбоксальдегид с отщеплением CONH_2 -группы.

В методе ГХ-МС важно уменьшить любые возможные взаимодействия недериватизированных соединений с неподвижной фазой или носителем. В работе [28] этого добились использованием стационарной фазы, насадки для колонок SP-2510 DA, специально приготовленных для соединений кислотного характера. Данная стационарная фаза подходит для определения широкого спектра противосудорожных препаратов с помощью газожидкостной хроматографии без дериватизации. Стабильные производные по амидной группе уменьшают полярность CBZ, тем самым минимизируя абсорбцию, приводящую к деградации. Например, в работе [29] предложено использовать производные триметилсила, а в работе [30] для дериватизации предложены производные диметиламинометилена. Авторы работы [31] применили третий подход, полностью преобразовав CBZ в IM. Этот способ дополнительно усложняется разложением CBZ-EP до 9-акридинкарбоксальдегида. Тем не менее таким образом можно обнаружить карбамазепин и его эпоксид, селективность масс-спектрометрического детектора позволяет использовать очень короткую колонку, и оба вещества могут быть одновременно зарегистрированы в режиме SIM [32]. В табл. 1 приведены примеры определения CBZ и ОХС в различных биологических объектах методом ГХ-МС.

С практической точки зрения, метод ГХ-МС имеет некоторое преимущество перед ВЭЖХ, поскольку нет необходимости в замене колонки или растворителя при определении различных групп соединений. ГХ-МС можно использовать без технических изменений для общего скрининга, для терапевтического мониторинга лекарств и для рутинных анализов биологических образцов в клинических лабораториях. В данной работе для анализа двух противоэпилептических препаратов применили метод ГХ-МС в сочетании с разработанной методикой пробоподготовки. Основным преимуществом применяемого метода является широкая доступность ГХ-МС-приборов в клинических лабораториях, простота и экспрессность анализа.

Цель данной работы — поиск и выбор условий пробоподготовки, определения CBZ, ОХС и идентификации продуктов их метаболизма и деградации в биологическом материале (печени) методом хромато-масс-спектрометрии для реше-

ния экспертных задач судебно-медицинской токсикологии.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Приборы и материалы. Использовали следующие реактивы: CBZ, амитриптилин (AM), ОХС ($\geq 99\%$, Sigma Aldrich, США), метанол (для ВЭЖХ), ацетонитрил (для ВЭЖХ), этилацетат (для ВЭЖХ), соляную кислоту 37%-ную, гидроксид натрия, водорода пероксид 35%-ный х. ч. Panreac, Испания), силикагель C18 (Agilent, США, C18 Endcapped, 100 g Bulk Sorbent, P/N 5982-5752), силикагель PSA (Supelco, США, 100 g Bulk, P/N 52738-U), сульфат магния безводный (Fluka, Италия, $\geq 97.0\%$), хлорид натрия (Fluka, Италия, $\geq 99.0\%$). Готовили стандартные растворы CBZ, ОХС, AM с концентрациями 1 мг/мл в метаноле.

Использовали газовые хроматографы Agilent Technologies 5975 с масс-спектрометром Agilent Technologies 7820A и Agilent Technologies 8890 с масс-спектрометром Agilent Technologies 5977B (США). Хроматографическое разделение проводили на капиллярной колонке DB-5ms (25 м $\times$ 0.25 мм $\times$ 0.25 мкм). В качестве газа-носителя использовали гелий со скоростью потока 1.0 мл/мин. Автосамплер G4513A использовали для введения 1 мкл пробы в ГХ-МС. Температуру нагрева колонки устанавливали в следующем диапазоне: 70–280°C при 20°C/мин с временем выдержки 1.00 мин, в результате чего общее время анализа составило около 20 мин. Масс-спектрометрическое разделение проводили с энергией электронов 70 эВ в режиме SCAN (50–600 m/z) и в режиме мониторинга выбранных ионов (SIM) с задержкой растворителя 4 мин.

Для приготовления образцов и растворов применяли весы аналитические AX-204 (Mettler Toledo, Швейцария), pH-метр S470 (Mettler Toledo, Швейцария), центрифугу Eppendorf Centrifuge 5804 R, Шейкеры Orbital Shaker S-3M, IKA Vortex 1, Eppendorf MixMate, центробежный вакуумный концентратор Eppendorf (Германия), гомогенизатор IKA ULTRA TURRAX Tube Drive (Германия), баню ультразвуковую TI-H 15 MF 2, Elma (Латвия), наборы для экстракции Quechers.

Дозирование проб, рабочих растворов и реактивов осуществляли дозаторами пипеточными одноканальными переменного объема Pipetman со сменными наконечниками 20–100 мкл или на 100–1000 мкл (Gilson, Франция). Исходные данные собирали и обрабатывали с помощью компьютерного программного обеспечения MSD ChemStation Data Analyses Software.

Искусственное устаревание карбамазепина и окскарбазепина. Искусственное устаревание лекарственных средств — это изменение препаратов в

Таблица 1. Условия ГХ-МС-определения карбамазепина и окскарбазепина в различных объектах

Объект (определяемое соединение)	Пробоподготовка	Условия проведения эксперимента	Аналитические характеристики	Литература
Сыворотка крови (CBZ)	ЖЖЭ: экстрагент – ацетонитрил; внутренний стандарт – имипрамин	ГХ: капиллярная колонка DB-5ht (30 м × 0.250 мм × 0.100 мкм); температура порта ввода: 250°C; скорость потока газа носителя (He): 0.815 мл/мин; МС (ЭИ-SIM): $m/z = 193$	Определяемые концентрации: 0.5–20 мкг/мл; $c_{\text{мин}} = 500$ нг/мл; степень извлечения: 104%	[33]
Цельная кровь (CBZ)	ТФЭ на колонках Bond Elut Certify; дериватизация: бутилирование; внутренний стандарт – CBZ-d10	ГХ: Капиллярная колонка (SGE, Austin, TX, BPX5) (12 м × 0.15 мм × 0.400 мкм); температура порта ввода: 280°C; температура печи: начальная 80°C, конечная 300°C; время анализа: 20 мин; МС (ЭИ-SIM): $m/z = 193$	Определяемые концентрации: 0.5–60 мкг/л; степень извлечения: 158%	[34]
Печень (CBZ)				
Сыворотка крови (CBZ)	ЖЖЭ: экстрагент – хлороформ; внутренний стандарт – гексобарбитал; дериватизация: раствор триметиланилина в безводном метаноле	ГХ: стеклянная насадочная колонка с неподвижной фазой OV-17: (1.2 м × 3 мм); температура порта ввода: 300°C; скорость потока газа носителя (He): 50 мл/мин; температура печи: начальная 215°C, конечная 250°C; МС (ЭИ-SIM): $m/z = 193$; время анализа: 5 мин	Определяемые концентрации: 1–100 мкг/мл; степень извлечения: 88.5%	[35]
Моча (CBZ)	ЖЖЭ: экстрагент – смесь дихлорметан–изопропанол–этилацетат (1 : 1 : 3); дериватизация: смесь ангидрида уксусной кислоты и пиридина (3 : 2)	ГХ: капиллярная колонка HP (12 м × 0.20 мм × 0.330 мкм); температура порта ввода: 270°C; температура печи: начальная 100°C, конечная 300°C; скорость потока газа носителя (He): 1 мл/мин; МС (ЭИ-SIM): $m/z = 193$	$c_{\text{мин}} = 10$ нг/мл	[36]
Плазма крови (CBZ)	ЖЖЭ: экстрагент – этилацетат; внутренний стандарт – 10,11-диглидрокарбамазепин	ГХ: короткая колонка (0.35 м × 1.50 мм × 0.330 мкм); температура порта ввода: 250°C; температура печи: начальная 100°C, конечная 300°C; скорость потока газа носителя (He): 25 мл/мин; МС (ЭИ-MRM): $m/z = 193$, $m/z = 236$.	Определяемые концентрации: 0.050–0.5 мкг/мл	[37]

Таблица 1. Окончание

Объект (определяемое соединение)	Пробоподготовка	Условия проведения эксперимента	Аналитические характеристики	Литература
Цельная кровь (CBZ)	Дисперсионная твердофазная экстракция: экстрагент – ацетонитрил и этилацетат; анионообменный сорбент – PSA; внутренний стандарт – диазепам-d5	ГХ: испаритель с программируемой температурой для ввода большого объема пробы (PTV-LVI), капиллярная колонка DB-1ms (30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм); начальная температура порта ввода: 70°C; начальная температура печи: 100°C; конечная 300°C; объем вводимой пробы 25 мкл; МС (ЭИ-SIM): $m/z = 193$	$c_H = 0.8–4$ мкг/мл; степень извлечения: 111%	[38]
Биологические жидкости и ткани (CBZ и ОХС)	ТФЭ: на экстракционных колонках Sytle Screen; внутренний стандарт – 10,11-дигидро CBZ.	ГХ: капиллярная колонка DB-1ms (12 м × 0.2 мм × 0.33 мкм); скорость потока газа носителя (He): 1 мл/мин; температура порта ввода: 250°C; температура печи: начальная 130°C, конечная 290°C; МС (ЭИ-SIM): $m/z = 193 - CBZ$, $m/z = 180 - OXC$	$c_H = 15$ нг/мл	[39]
Плазма (ОХС)	ЖЖЭ: экстрагент – дихлорметан; внутренний стандарт – карбазепин-10,11-дигидро дериватизация: MSTFA	ГХ: испаритель с холодным вводом; капиллярная колонка (25 м × 0.31 мм × 0.17 мкм); скорость потока газаносителя (He): 1 мл/мин; температура печи: начальная 140°C, конечная 240°C; МС (ЭИ-SIM): $m/z = 281 - OXC$ производное	$c_{мин} = 0.1$ нг/мл; степень извлечения: 73.65%	[40]
Плазма и моча (ОХС)	Жидкостная микроэкстракция; этанол для осаждения белковых молекул; внутренний стандарт бисфенол А-d16	ГХ: капиллярная колонка HP-5ms (30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм); скорость потока газа носителя (He), 2.5 мл/мин; температура порта ввода: 250°C; температура печи: начальная 70°C, конечная 300°C; МС (ЭИ-SIM): $m/z = 209 - OXC$	$c_H = 21$ мкг/кг; $c_{мин} = 6.2$ мкг/мл; степень извлечения: 97–99%	[41]
Цельная кровь и моча (CBZ и ОХС)	Микроэкстракция SiO_2-C_{18} ; внутренний стандарт – кофеин	ГХ: капиллярная колонка RTX1ms (30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм); скорость потока газа носителя (He): 1 мл/мин; температура порта ввода: 270°C; температура печи: начальная 100°C, конечная 300°C; время анализа: 30 мин; МС (ЭИ-SIM): $m/z = 193 - CBZ$, $m/z = 236 - OXC$	Определяемые концентрации: 1–500 нг/мл; $c_H = 0.0080$ нг/мл – ОХС; $c_H = 0.0062$ нг/мл – CBZ; степень извлечения: 69–98%	[42]

Примечание: ЖЖЭ – жидкостно-жидкостная экстракция, ТФЭ – твердофазная экстракция, МС (ЭИ-SIM) – масс-спектрометрия с электрораспылительной ионизацией в режиме выделенного иона, MSTFA – N-метил-N-(триметилсилил)трифторацетамид.

воссозданных неблагоприятных условиях с целью установления продуктов их деградации. Растворы СВЗ и ОХС подвергали кислотному и щелочному гидролизу, воздействию окислителя и высоких температур. Использовали следующий протокол при проведении эксперимента по искусственному устареванию. Метанольные растворы, содержащие 1 мг вещества, выпаривали в девяти пробирках типа Эппендорф в концентраторе в течение 15 мин. В три пробирки добавляли по 3 мл 18%-ной HCl, либо 2 М раствор гидроксида натрия, либо 3%-ный раствор пероксида водорода, подкисленный HCl до pH 1 и нагревали в кипящей водяной бане в течение 10 мин, 30 мин, 1 ч.

Процедура экстракции. Все растворы отдельно подкисляли 0.1 М HCl до pH 1–2. Далее экстрагировали 2 мл этилацетата и органический слой отбирали в пробирки типа Эппендорф. Водную фазу подщелачивали до pH 10 раствором гидроксида натрия. Затем экстрагировали 2 мл этилацетата и надосадочную жидкость отбирали в пробирки типа Эппендорф. Кислые и щелочные извлечения объединяли, и упаривали растворитель в течение 30 мин. Сухие остатки растворяли в 1 мл этилацетата. Переносили полученные растворы в стеклянные флаконы объемом 2 мл и проводили ГХ-МС-анализ.

Подготовка образцов биологического материала. В данной работе методику проведения экстракции оптимизировали и адаптировали для извлечения СВЗ и ОХС из *post mortem* биологической ткани человека. В центрифужную пробирку объемом 50 мл с завинчивающейся крышкой помещали 2.5 г гомогенизированного образца печени. К образцу добавляли 100 мкл раствора внутреннего стандарта в метаноле. Закрытую пробирку помещали в орбитальный шейкер, встряхивали в течение 30 мин при 300 об./мин. Добавляли в пробирку 5 мл ацетонитрила, закрывали, помещали в орбитальный шейкер и встряхивали в течение 10 мин при 300 об./мин. Добавляли смесь солей: 1000 мг сульфата магния и 250 мг хлорида натрия. Закрывали пробирку и интенсивно встряхивали. Поместили пробирку на ультразвуковую баню на 30 мин, температура нагрева 30°C. Центрифугировали пробирку в течение 10 мин при 10000 g. Отбирали 2.7 мл надосадочной жидкости в центрифужную пробирку объемом 15 мл с завинчивающейся крышкой, содержащей смесь солей и сорбентов: 350 мг сульфата магния, 200 мг силикагеля C18 и 100 мг PSA. Встряхивали на вортексе в течение 5 мин при 2000 об./мин. Центрифугировали пробирку в течение 10 мин при 10000 g. Отбирали 1.5 мл раствора после твердофазной экстракции и переносили в пробирку типа Эппендорф объемом 2 мл. Упаривали досуха в центрифужном концентраторе в течение 40 мин при 60°C. Добавляли в пробирку 150 мкл метанола, встряхивали на вортексе в течение 2 мин при 2000 об./мин. Переносили

полученный раствор во вставку стеклянной вials объемом 2 мл. Выполняли ГХ-МС-анализ.

Для расчета концентрации СВЗ и ОХС в печени использовали градуировочный график, построенный методом внутреннего стандарта с использованием стандартных растворов исследуемых веществ, которые добавляли к ткани печени, не содержащей СВЗ и ОХС. Далее подготовку образцов проводили, как описано выше. При данном способе определения потери аналита при изолировании не влияют на результат анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Идентификация продуктов деградации карбамазепина и окскарбазепина. Методом ГХ-МС установили продукты деградации, образующиеся в процессе гидролиза и окисления. В табл. 2 представлены структурные формулы продуктов деградации, их времена удерживания и масс-спектры.

На всех хроматограммах наблюдается интенсивный пик IM, его образование связано с термодеградацией СВЗ в испарителе.

Найдено, что под действием 18%-ной HCl происходит частичное разложение молекулы СВЗ с процентом деградации ~12% и образуются три основных продукта: IM, AI, AI-9-карбальдегид. Относительное содержание IM растет при увеличении продолжительности реакции. Относительное содержание продукта 10,11-дигидрокарбамазепина уменьшается с увеличением продолжительности реакции, так как при длительном воздействии высокой температуры отщепляется CONH₂-группа и 10,11-дигидрокарбамазепин (№ 9, табл. 2) переходит в иминодибензил. Наличие пика AI-9-карбальдегида свидетельствует об образовании СВЗ-EP, который в условиях хроматографического определения перегруппировывается с отщеплением CONH₂-группы. Хлорированные производные СВЗ и IM образуются через 10 мин после начала реакции, при этом 10-хлор-СВЗ (№ 11, табл. 2) с временем удерживания 13.08 мин оказывается нестабильным в условиях эксперимента и уже через полчаса его не удалось идентифицировать.

Под действием 0.1 М раствора щелочи разложение молекул СВЗ практически не происходит.

Под действием окислителя (пероксид водорода, подкисленный соляной кислотой) происходит частичное разложение СВЗ (процент деградации ~82%) с образованием трех преобладающих продуктов IM, AI, AI-9-карбальдегида, причем AI образуется в значительно большем количестве, чем IM. Продукт окисления АО и СВЗ не удалось разделить в данных условиях, на хроматограмме они элюируются одним пиком, но в режиме SIM по выбранным ионам 195 и 193 соответственно рассчитали их относительные количества (табл. 3). Продукт разложения 10,11-дигидрокарбамазепина и

Таблица 2. Структурные формулы предполагаемых продуктов деградации карбамазепина и окскарбазепина, полученные в условиях кислотного и щелочного гидролиза и окисления

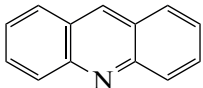
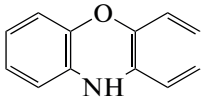
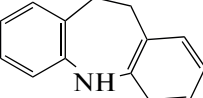
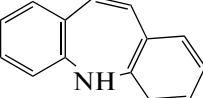
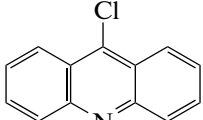
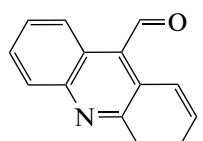
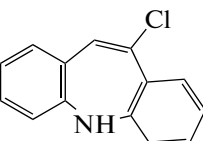
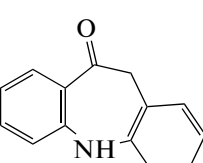
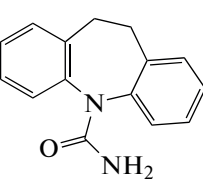
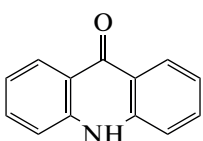
№	Название	Способ получения продукта деградации	t_R , мин	Молярная масса, г/моль	Структурная формула
1	Акридин (AI)	Щелочной гидролиз, кислотный гидролиз, окисление	9.8	179	
2	10Н-Феноксазин	Окисление	10.1	183	
3	Иминодибензил (ИДБ)	Щелочной гидролиз, кислотный гидролиз, окисление	10.5	195	
4	Иминостильбен (AI)	Щелочной гидролиз, кислотный гидролиз, окисление	10.7	236	
5	9-Хлоракридин (9-Cl-акридин)	Окисление	10.8	213	
6	Акридин-9-карбальдегид (AI-9-карбальдегид)	Щелочной гидролиз, кислотный гидролиз, окисление	11.1	207	
7	10-Хлор-5Н-дibenzo[b,f]азепин (10-Cl-ИДБ)	Кислотный гидролиз, окисление	11.6	227	
8	10Н-Дибензо[b,f]азепин-10-он (О-ИДБ)	Щелочной гидролиз, кислотный гидролиз, окисление	11.6	209	
9	10,11-Дигидро-CBZ	Щелочной гидролиз, кислотный гидролиз, окисление	12.2	238	
10	Акридин-9-он (АО)	Окисление	12.4	195	

Таблица 2. Окончание

№	Название	Способ получения продукта деградации	t_R , мин	Молярная масса, г/моль	Структурная формула
11	10-Хлор-CBZ (10-Cl-CBZ)	Кислотный гидролиз, окисление	13.1	270	
12	4,5-Дихлоракридин-9-он (4,5-ди-Cl-AO)	Окисление	13.3	263	
13	4-Хлоракридин-9-он (4-Cl-AO)	Окисление	13.7	229	
14	5Н- Дибензо[b,f]азепин-10,11-дион (2О-ИДБ)	Окисление	13.7	223	

Условия: капиллярная колонка DB-5ms (25 м × 0.25 мм × 0.25 мкм), газ-носитель гелий, скорость потока 1 мл/мин, режим SCAN.

Таблица 3. Средние относительные содержания продуктов деградации карбамазепина (%) в условиях окисления, рассчитанные методом внутренней нормализации ($n = 3$)

Время реакции, мин	IM	AI	ИДБ	AI-9-Карбальдегид	10,11-Дигидро-CBZ	9-Cl-AI	10-Cl-ИДБ	10-Хлор-CBZ	АО	4-Cl-AO	4,5-Ди-Cl-AO	10Н-Феноксазин
10	3	73	0.2	7	0.1	2	0.03	0.2	2.5	—	—	0.13
30	2	83	0.3	9	—	2	0.01	0.2	2.8	0.6	0.05	—
60	0.5	83	0.5	7	—	2	0.02	0.2	3.3	2.3	0.40	—

продукт окисления 10Н-феноксазин оказались нестабильными в условиях проведения эксперимента и идентифицируются только на хроматограмме, полученной при минимальном времени гидролиза. Наоборот, хлорированные производные АО (9), 4-Cl-AO и 4,5-ди-Cl-AO образуются только через 30 мин.

Окскарбазепин обладает скудным набором стабильных во времени продуктов деградации.

Определение карбамазепина и окскарбазепина. Известно, что терапевтический диапазон кон-

центраций CBZ и ОХС в печени варьируется от 200 нг/г до 2 мкг/г, а токсические концентрации — от 2 мкг/г, содержания ниже 200 нг/г относятся к следовым количествам. Чувствительность метода ГХ-МС достаточна для обнаружения и определения CBZ и ОХС на таких уровнях без предварительного концентрирования. Определение проводили с использованием АМ в качестве внутреннего стандарта (ВС).

Результаты жидкостной экстракции высоких концентраций CBZ и ОХС из модельных раство-

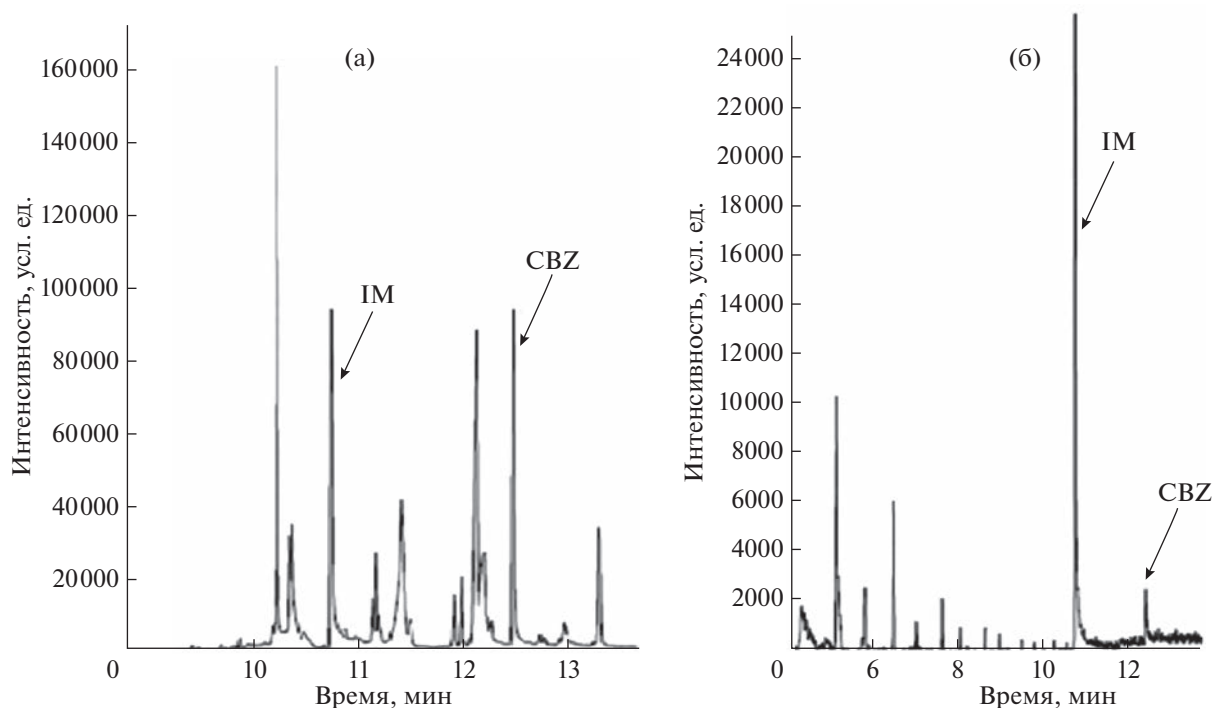


Рис. 3. Хроматограммы модельных растворов гомогенизатов печени с добавлением 5 мкг/г карбамазепина: (а) экстракция QUECHERS; (б) жидкостная экстракция. Капиллярная колонка DB-5ms (25 м × 0.25 мм × 0.25 мкм), газ-носитель гелий, скорость потока 1 мл/мин, температура испарителя 250°C, режим SCAN.

ров оказались неудовлетворительными: интенсивность пиков CBZ в 50 раз меньше, чем при использовании процедуры QUECHERS (рис. 3). Большие потери аналита могут быть связаны с образованием эмульсии и плохим разделением слоев, а также с гидрофильностью определяемых соединений. Выбранные ионы для идентификации и определения, а также времена удерживания веществ приведены в табл. 4. Некоторые метрологические характеристики приведены в табл. 5. В качестве аналитического сигнала использовали отношение площади хроматографического пика, соответствующего CBZ и OXC, к площади пика внутреннего стандарта (S_i/S_{BC}).

Для CBZ предел обнаружения ($c_{мин}$) рассчитывали на основе соотношения сигнал/шум $S/N = 3$ для проб с низкими концентрациями. Предел об-

наружения исследуемых антиэпилептических препаратов составил 0.1 мкг/г для образцов ткани. Предел определения (c_n) рассчитывали на основе соотношения $S/N = 10$; он составил 0.3 мкг/г для образцов ткани. Правильность и воспроизводимость оценивали в ходе одного эксперимента на трех уровнях концентраций CBZ и OXC — нижнем, среднем и высоком. Получили удовлетворительные результаты: значения для образцов печени при разных концентрациях аналитов ниже 20%, что соответствует требованиям Руководства по валидации Российского центра судебно-медицинской экспертизы [43].

На рис. 4 представлены хроматограммы двух образцов печени человека (посмертные экспертные образцы ткани печени проанализированы в Российском Центре судебно-медицинской экс-

Таблица 4. Времена удерживания компонентов и ионы, выбранные для определения карбамазепина и окскарбазепина

Вещество	Молекулярный ион (m/z)	Ионы, выбранные для определения (m/z)	Время удерживания, мин
CBZ	236	193	12.47
AM (BC)	277	58	11.85
OXC	252	209	12.96

Таблица 5. Метрологические характеристики способа определения карбамазепина и окскарбазепина в образцах тканей печени методом ГХ-МС ($n = 5$, $P = 0.95$)

Соединение	$c_{\text{мин}}$, мкг/г	$c_{\text{н}}$, мкг/г	Диапазон линейности, мкг/г	Уравнение градуировочной зависимости	$s_{\text{г}}$
CBZ	0.1	0.3	0.3–5.0 $r = 0.998$	$S_i/S_{\text{BC}} = 0.2942c_i - 0.0136$	0.08
ОХС	0.2	0.5	0.5–5.00 $r = 0.998$	$S_i/S_{\text{BC}} = 0.054c_i - 0.008$	0.09

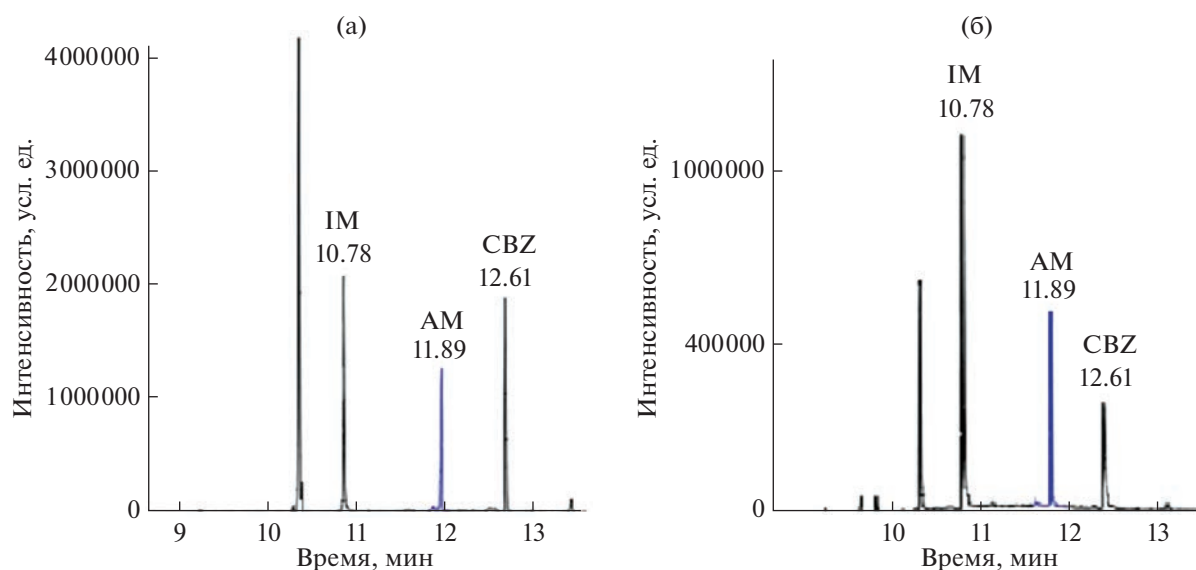
пертизы). Содержание CBZ в образце 1 составило 1.1 мкг/г, в образце 2 – 1.7 мкг/г. Таким образом, концентрации CBZ в обоих образцах лежат в терапевтическом диапазоне, так что, по-видимому, смерть наступила не по причине отравления CBZ. Окскарбазепин и его метаболиты, а также продукты деградации карбамазепина в образцах не обнаружены.

* * *

Таким образом, разработан способ определения карбамазепина и окскарбазепина в тканях печени (*post mortem*) методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. В качестве внутреннего стандарта использован амитриптилин. Для пробоподготовки образцов биоматериала предложена процедура QUECHERS. Исследованы продукты деградации карбамазепина и окскарбазепина в модельных растворах при щелочном и кислотном гидролизе и окислении. Предварительно идентифицированы 14 метаболитов и продуктов деградации. Установлено, что наибольшее их количество образу-

ется при окислении подкисленным до pH 1–2 3%-ным раствором пероксида водорода. Определены основные аналитические характеристики разработанного способа определения карбамазепина и окскарбазепина в тканях печени. Предел обнаружения составляет 0.1 мкг/г и 0.2 мкг/г для CBZ и ОХС соответственно. Установлено соответствие разработанного способа требованиям Руководства по валидации Российского центра судебно-медицинской экспертизы. Проведен анализ двух образцов *post mortem* печени, определены уровни концентраций карбамазепина. Найденные концентрации карбамазепина составляют 1.1 мкг/г в образце 1 и 1.7 мкг/г в образце 2.

Исследование проводилось с использованием оборудования ЦКП МГУ “Технологии получения новых наноструктурированных материалов и их комплексное исследование”, приобретенного МГУ по программе обновления приборной базы в рамках национального проекта “Наука” и в рамках Программы развития МГУ.

**Рис. 4.** Хроматограммы образцов *post mortem* печени: (а) образец 1; (б) образец 2. Режим SIM. Условия анализа см. в тексте.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Schmidt D., Elger C.E. What is the evidence that oxcarbazepine and carbamazepine are distinctly different antiepileptic drugs? // *Epilepsy Behav.* 2004. V. 5 № 5. P. 627.
2. Furst S.M., Uetrecht J. P. The effect of carbamazepine and its reactive metabolite, 9-acridine carboxaldehyde, on immune cell function in vitro // *Int. J. Immunopharmacol.* 1995. V. 17. № 5. P. 445.
3. Wad N., Guenat C., Krämer G. Carbamazepine: detection of another metabolite in serum, 9 hydroxymethyl-10-carbamoyl acridan // *Ther. Drug Monit.* 1997. V. 19. № 3. P. 314.
4. Iida A., Sasaki E., Yano A., Tsuneyama K., Fukami T., Nakajima M., Yokoi T. Carbamazepine-induced liver injury requires CYP3A-mediated metabolism and glutathione depletion in rats // *Drug Metab. Dispos.* 2015. V. 43. № 7. P. 958.
5. Jiang W., Xia T., Yun Y., Li M., Zhang F., Gao S., Chen W. UHPLC-MS/MS method for simultaneous determination of carbamazepine and its seven major metabolites in serum of epileptic patients // *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2019. V. 1108. P. 17.
6. Eichelbaum M., Tomson T., Tybring G., Bertilsson L. Carbamazepine metabolism in man // *Clin. Pharmacokinet.* 1985. V. 10. № 1. P. 80.
7. Knowles S.R., Uetrecht J., Shear N.H. Idiosyncratic drug reactions: The reactive metabolite syndromes // *The Lancet.* 2000. V. 356. № 9241. P. 1587.
8. Brenton H., Cociglio M., Bressolle F., Peyriere H., Blayac J., Hillairebuys D. Liquid chromatography–electrospray mass spectrometry determination of carbamazepine, oxcarbazepine and eight of their metabolites in human plasma // *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2005. V. 828. № 1–2. P. 80.
9. Csetenyi J., Baker K.M., Frigerio A., Morselli P.L. Iminostilbene-a metabolite of carbamazepine isolated from rat urine // *J. Pharm. Pharmacol.* 1973. V. 25. № 4. P. 340.
10. Pearce R.E. Pathways of carbamazepine bioactivation in vitro I. Characterization of human cytochromes P450 responsible for the formation of 2- and 3-hydroxylated metabolites // *Drug Metab. Dispos.* 2002. V. 30 № 11. P. 1170.
11. Furst S.M., Uetrecht J.P. Carbamazepine metabolism to a reactive intermediate by the myeloperoxidase system of activated neutrophils // *Biochem. Pharmacol.* 1993. V. 45. № 6. P. 1267.
12. Larkin J., McKee P., Forrest G., Beastall G., Park B., Lowrie J., Brodie M. Lack of enzyme induction with oxcarbazepine (600 mg daily) in healthy subjects // *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1991. V. 31. № 1. P. 65.
13. Flesch G. Overview of the clinical pharmacokinetics of oxcarbazepine // *Clin. Drug Investig.* 2004. V. 24. № 4. P. 185.
14. Schütz H., Feldmann K.F., Faigle J.W., Kriemler H.P., Winkler T. The metabolism of ¹⁴C-oxcarbazepine in man. *Xenobiotica* // 1986. V. 16. № 8. P. 769.
15. Mandrioli R., Albani F., Casamenti G., Sabbioni C., Raggi M.A. Simultaneous high-performance liquid chromatography determination of carbamazepine and five of its metabolites in plasma of epileptic patients // *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.* 2001. V. 762. № 2. P. 109.
16. Deeb S., McKeown D.A., Torrance H.J., Wylie F.M., Logan B.K., Scott K.S. Simultaneous analysis of 22 antiepileptic drugs in postmortem blood, serum and plasma using LC–MS–MS with a focus on their role in forensic cases // *J. Anal. Toxicol.* 2014. V. 38. № 8. P. 485.
17. Jiang W., Xia T., Yun Y., Li M., Zhang F., Gao S., Chen W. UHPLC-MS/MS method for simultaneous determination of carbamazepine and its seven major metabolites in serum of epileptic patients // *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2019. V. 1108. P. 17.
18. Ferrari Júnior E., Caldas E. D. Simultaneous determination of drugs and pesticides in postmortem blood using dispersive solid-phase extraction and large volume injection-programmed temperature vaporization-gas chromatography–mass spectrometry // *Forensic Sci. Int.* 2018. V. 290. P. 318.
19. Moffat A.C., Osselson M.D., Widdop B., Watts J. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material. 4th Ed. Química Farmacêutica, 2011. 2609 p.
20. Levine B., Phipps R.J., Naso C., Fahie K., Fowler D. Tissue distribution of newer anticonvulsant drugs in postmortem cases // *J. Anal. Toxicol.* 2010. V. 34. № 8. P. 506.
21. Lionetto L., Casolla B., Cavallari M., Tisei P., Buttinelli C., Simmaco M. High-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for simultaneous quantification of carbamazepine, oxcarbazepine, and their main metabolites in human serum // *Ther. Drug Monit.* 2012. V. 34. № 1. P. 53.
22. Wu S., Xu W., Subhani Q., Yang B., Chen D., Zhu Y., Li L. Ion chromatography combined with online electrochemical derivatization and fluorescence detection for the determination of carbamazepine in human plasma // *Talanta.* 2012. V. 101. P. 541.
23. Veiga A., Dordio A., Carvalho A. J.P., Teixeira D.M., Teixeira J.G. Ultra-sensitive voltammetric sensor for trace analysis of carbamazepine // *Anal. Chim. Acta.* 2010. V. 674. № 2. P. 182.
24. Gibbons S.E., Wang C., Ma Y. Determination of pharmaceutical and personal care products in wastewater by capillary electrophoresis with UV detection // *Talanta.* 2011. V. 84. № 4. P. 1163.
25. Cámara M.S., Mastandrea C., Goicoechea H.C. Chemometrics-assisted simple UV-spectroscopic determination of carbamazepine in human serum and comparison with reference methods // *J. Biochem. Biophys. Methods.* 2005. V. 64. № 3. P. 153.
26. Kalanur S.S., Seetharamappa J. Electrochemical oxidation of bioactive carbamazepine and its interaction with DNA // *Anal. Lett.* 2010. V. 43. № 4. P. 618.
27. Burke J.T., Thénot J.P. Determination of antiepileptic drugs // *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.* 1985. V. 340. P. 199.
28. Godolphin W., Thoma J. Quantitation of anticonvulsant drugs in serum by gas-chromatography on the stationary phase SP-2510 // *Clin. Chem.* 1978. V. 24. № 3. P. 483.

29. Kupferberg H.J. GLC determination of carbamazepine in plasma // J. Pharm. Sci. 1972. V. 61. № 2. P. 284.
30. Least C.J., Johnson G.F., Solomon H.M. Therapeutic monitoring of anticonvulsant drugs: Gas-chromatographic simultaneous determination of primidone, phenylethylmalonamide, carbamazepine, and diphenylhydantoin // Clin. Chem. 1975. V. 21. № 11. P. 1658.
31. Abraham C.V., Joslin H.D. Simultaneous gas-chromatographic analysis for phenobarbital, diphenylhydantoin, carbamazepine, and primidone in serum // Clin. Chem. 1976. V. 22. № 6. P. 769.
32. Trager W.E., Levy R.H., Patel I.H., Neal J.M. Pharmacokinetics of carbamazepine-10,11-epoxide before and after autoinduction in rhesus monkeys // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1978. V. 206. № 3. P. 607.
33. Hallbach J., Vogel H., Guder W.G. Determination of lamotrigine, carbamazepine and carbamazepine epoxide in human serum by gas chromatography mass spectrometry // Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1997. V. 35. № 10. P. 755.
34. Speed D.J., Dickson S.J., Cairns E.R., Kim N.D. Analysis of six anticonvulsant drugs using solid-phase extraction, deuterated internal standards, and gas chromatography-mass spectrometry // J. Anal. Toxicol. 2000. V. 24. № 8. P. 685.
35. Inotsume N., Higashi A., Kinoshita E., Matsuoka T., Nakano M. Rapid and sensitive determination of ethotoin as well as carbamazepine, phenobarbital, phenytoin and primidone in human serum // J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl. 1986. V. 383. № 1. P. 166.
36. Maurer H.H. Detection of anticonvulsants and their metabolites in urine within a "general unknown" analysis procedure using computerized gas chromatography-mass spectrometry // Arch. Toxicol. 1990. V. 64. № 7. P. 554.
37. Palmér L., Bertilsson L., Coliste P., Rawlins, M. Quantitative determination of carbamazepine in plasma by mass fragmentography // Clin. Pharmacol. Ther. 1973. V. 14. № 5. P. 827.
38. Ferrari Júnior E., Caldas E.D. Simultaneous determination of drugs and pesticides in postmortem blood using dispersive solid-phase extraction and large volume injection-programmed temperature vaporization-gas chromatography-mass spectrometry // Forensic Sci. Int. 2018. V. 290. P. 318.
39. Lewis R.J., Angier M.K., Johnson R.D. False carbamazepine positives due to 10,11-dihydro-10-hydroxycarbamazepine breakdown in the GC-MS injector port // J. Anal. Toxicol. 2014. V. 38. № 8. P. 519.
40. Von Unruh G.E., Paar W.D. Gas chromatographic/mass spectrometric assays for oxcarbazepine and its main metabolites, 10-hydroxy-carbazepine and carbamazepine-10,11-trans-diol // Biomed. Environ. Mass Spectrom. 1986. V. 13. № 12. P. 651.
41. Erarpat S., Bodur S., Fırat Ayyıldız M., Tahir Günkara Ö., Erulaş F., Chorme, D.S., Bakırdere S. Accurate and simple determination of oxcarbazepine in human plasma and urine samples using switchable-hydrophilicity solvent in GC-MS // Biomed. Chromatogr. 2020. V. 34. № 10. Article e4915.
42. Rani S., Malik A.K. A novel microextraction by packed sorbent-gas chromatography procedure for the simultaneous analysis of antiepileptic drugs in human plasma and urine // J. Sep. Sci. 2012. V. 35. № 21. P. 2970.
43. Барсегян С.С., Саломатин Е.М., Плетенева Т.В., Максимова Т.В., Долинкин А.О. Методические рекомендации по валидации аналитических методов, используемых в судебно-химическом и химико-токсикологическом анализе биологического материала. М.: Российский центр судебно-медицинской экспертизы, 2014. 52 с.

УДК 543.551.4:543.8

КОМПЛЕКСНАЯ КУЛОНОМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ПИВА

© 2023 г. С. Ю. Матвеева^а, Г. К. Зиятдинова^а, *

^аХимический институт им. А.М. Бутлерова, Казанский федеральный университет
ул. Кремлевская, 18, Казань, 420008 Россия

*e-mail: Ziyatdinovag@mail.ru

Поступила в редакцию 28.08.2022 г.

После доработки 04.11.2022 г.

Принята к публикации 07.11.2022 г.

Оценена реакционная способность кулонометрических титрантов (брома, йода и гексацианоферрат(III)-ионов) по отношению к антиоксидантам (АО) пива. Показано, что электрогенерированный йод взаимодействует с аскорбиновой кислотой и серосодержащими соединениями, но не окисляет фенольные АО. Найдены стехиометрические коэффициенты реакций фенольных АО с электрогенерированными бромом и гексацианоферрат(III)-ионами. Проведена комплексная оценка антиоксидантных свойств пива через обобщенные антиоксидантные показатели (интегральную антиоксидантную емкость (АОЕ) по реакции с электрогенерированным бромом, железовосстанавливающую способность (ЖВС) по реакции с электрогенерированными гексацианоферрат(III)-ионами и окисляемость по йоду). Рассмотрены 16 образцов, отличающихся типом брожения, сортом и стилем. Показано статистически достоверное отличие параметров для отдельных образцов. Интегральная АОЕ и ЖВС пива коррелирует с общим содержанием фенольных соединений и антиоксидантной активностью ($r = 0.7175-0.8703$ при $r_{\text{крит}} = 0.4973$), что подтверждает правильность полученных с помощью кулонометрического титрования результатов. Различия обобщенных антиоксидантных параметров пива верхового и низового брожения, а также фильтрованного и нефильтрованного светлого и темного пива статистически незначимы ($p = 0.10-0.82$). Оценено изменение обобщенных антиоксидантных параметров пива при хранении на воздухе.

Ключевые слова: кулонометрическое титрование, антиоксиданты, обобщенные антиоксидантные показатели, пиво, анализ пищевых продуктов.

DOI: 10.31857/S0044450223040114, EDN: KZOCAP

Пиво является источником антиоксидантов (АО), среди которых выделяют фенольные АО, продукты реакции Майяра и сульфиты [1]. Основными АО пива являются фенольные соединения, большая часть которых поступает из ячменя (более 60% общего содержания [2]), остальные — из хмеля. Фенольные соединения оказывают влияние на свойства пива, в частности, на окислительную стабильность (например, возникновение помутнения, образование цвета, вкуса, фильтрацию, стабильность пены и окислительно-восстановительное состояние) и микробную безопасность [3, 4].

Ячмень содержит различные классы фенольных соединений: фенольные кислоты (бензойную и коричную кислоты и их производные), проантоцианидины, хинины, флаванолы, халконы, флавоны, флаванолы и аминокислотные соединения. Они могут присутствовать в свободной, этерифицированной или нерастворимой связанной форме, которые количественно распределяются между различными тканями ячмен-

ных зерен [3, 5]. Основными низкомолекулярными АО в зернах ячменя являются фенольные кислоты (феруловая и *n*-кумаровая кислота), находящиеся в основном во внешних слоях зерна (шелухе, околоплоднике, семеннике и алейроне), но также обнаруживаются в эндосперме. В конечном продукте содержание гидроксикоричных кислот составляет около 600 мг/л [6]. Другие фенольные кислоты (ванилиновая, синаповая и *n*-гидроксibenзойная кислоты) присутствуют в связанном состоянии [7]. Также в ячмене содержится ряд флаван-3-олов: мономеры (катехин и эпикатехин), димеры (продельфинидин В3 и процианидин В3) и тримеры (процианидин С2), высокомолекулярные танины, производные флавоноидов [7]. В процессе соложения происходят изменения в составе ячменя, включая уменьшение содержания эндогенных фенольных соединений [7]. Кроме того, показано, что содержание фенольных соединений в солоде обычно выше, чем в ячмене, но количественное соотношение различных

классов АО почти идентично, что свидетельствует о лучшем извлечении флавоноидов и фенольных кислот из солода после обжига [8–10].

Аромат и вкус пива обусловлен также присутствием летучих фенольных соединений. Выделяют два основных летучих фенола – 4-винилгваякол и 4-винилфенол, которые могут образовываться в ходе восстановления 4-этилгваякола и 4-этилфенола, а также при декарбоксилировании гидроксикоричных кислот в ходе ферментации или в результате термического воздействия на стадиях кипячения сусла, выдерживания в вихревой ванне или пастеризации [11].

Таким образом, оценка антиоксидантных свойств пива представляет практический интерес, а антиоксидантные параметры могут использоваться как для оценки качества пива, так и для контроля технологии его изготовления. Для этих целей используют два подхода: определение индивидуальных АО в пиве или оценку обобщенных антиоксидантных показателей.

В первом случае задача решается методом хроматографии с различными типами детектирования [12]. Обобщенные антиоксидантные показатели оценивают либо по данным хроматографии, суммируя содержание индивидуальных АО отдельных классов, либо спектрофотометрическими методами [13–15], применяя стандартные параметры (общее содержание фенольных соединений [13, 14], железовосстанавливающую способность (ЖВС) [15], антиоксидантную активность по реакции с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом [13–15] или с супероксид анион-радикалом [13]).

Антиоксиданты пива являются электрохимически активными соединениями. Описано несколько способов электрохимической оценки антиоксидантных свойств пива, для чего предложено несколько типов биосенсоров. Биосенсор на основе тирозиназы и поли(3,4-этилендиоксифена), иммобилизованных на угольном электроде с соногелем в качестве связующего компонента пасты, позволяет оценить антиоксидантную емкость пива, обусловленную окислением АО фенольного типа. В качестве стандарта использована кофейная кислота [16]. Другой оригинальный биосенсор на основе ткани яблока, включенной в угольную пасту, дает отклик на фенольные АО за счет реакции их окисления под действием полифенолоксидазы, содержащейся в ткани яблока [17]. Сенсор применен для оценки общего содержания флаванолов в пиве. Описан ДНК-сенсор с внешней мембраной Нафиона для оценки антиоксидантных свойств пива [18]. Сенсор получали путем послойного нанесения низкомолекулярной ДНК и Нафиона на поверхность печатного угольного электрода. Измерение проводили в условиях циклической вольтамперометрии или спектроскопии электрохимического

импеданса в присутствии редокс-пары гексацианоферрат(II)/(III). Для оценки антиоксидантных свойств пива использовали относительное изменение отклика сенсора на редокс-медиатор в ходе инкубирования сенсора в среде, содержащей гидроксильные радикалы, в отсутствие и в присутствии пива [18].

Предложен способ оценки антиоксидантной активности пива, основанный на изменении тока окисления пероксида водорода на ртутном каплющем электроде [19]. Антиоксидантную активность выражали как объем пива (мкл), который обеспечивает 50%-ное уменьшение тока окисления 5.7 мМ H_2O_2 .

Таким образом, разработка новых электрохимических способов оценки антиоксидантных свойств пива представляет актуальную задачу, для решения которой предложена гальваностатическая кулонометрия с электрогенерированными титрантами. Такой подход хорошо зарекомендовал себя для объектов растительного происхождения, содержащих фенольные АО (специй [20–22], чая и кофе [23, 24], коньяков и бренди [25], лекарственного растительного сырья [26]). Применительно к пиву такой подход является новым. Варьирование кулонометрических титрантов позволило провести комплексную оценку антиоксидантных свойств пива через обобщенные антиоксидантные показатели (интегральную антиоксидантную емкость (АОЕ) по реакции с электрогенерированным бромом, ЖВС по реакции с электрогенерированными гексацианоферрат(III)-ионами и окисляемость по иоду).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты и растворы. Использовали феруловую (99%) и хлорогеновую (95%) кислоты (Aldrich, Германия); кофейную (98%), аскорбиновую (99%), галловую (99%) и *n*-кумаровую кислоты (98%), кверцетина дигидрат (98%), лютеолин (98%) и катехин гидрат (98%) (Sigma, Германия); танин фармакопейной чистоты, синаповую (97%), сиреневую (97%) и ванилиновую кислоты (97%) (Fluka, Германия); рутина тригидрат (95%) (Alfa Aesar, Великобритания). Их стандартные 10 мМ (1.0 мМ для рутина) растворы готовили по точной навеске, которую растворяли в этаноле (ректификате) или в дистиллированной воде (для аскорбиновой кислоты). Реактив Фолина–Чокальтеу (Sigma-Aldrich, Германия) разбавляли дистиллированной водой в соотношении 1 : 10. Раствор 2,2-дифенил-1-пикрилгидразида (ДФПГ*) (Aldrich, Германия) с концентрацией 0.20 мМ готовили в метаноле х.ч. Остальные реактивы были марки х.ч.

В качестве объектов анализа выбрали коммерческие образцы пива различных производителей.

Таблица 1. Классификация исследуемых образцов пива и их характеристики

№	Тип брожения	Сорт	Стиль	Страна изготовления	Характеристики пива	Содержание этанола, %
1	Эль	Стаут	Dry	Ирландия	Темное фильтрованное	4.2
2		Коричневый эль	English	Великобритания	Темное фильтрованное	4.7
3		Пейл-эль	Pale Red Ale	Ирландия	Темное фильтрованное	3.8
4		Пшеничный эль	Hefeweizen	Германия	Светлое нефилтрованное	5.0
5			Witbier	Германия	Светлое нефилтрованное	5.5
6			Dunkelweizen	Германия	Темное нефилтрованное	5.3
7		Бельгийский эль	Abbey	Бельгия	Светлое нефилтрованное	6.6
8				Бельгия	Темное фильтрованное	6.5
9	Лагер	Пилснер	Light Lager	Чехия	Светлое фильтрованное	5.0
10				Чехия	Светлое фильтрованное	4.4
11				Чехия	Светлое фильтрованное	4.9
12		Бок	Doppelbock	Германия	Темное нефилтрованное	7.9
13		Европейский лагер	Munich Helles	Германия	Светлое фильтрованное	4.9
14			Lager	Германия	Светлое фильтрованное	5.2
15				Германия	Светлое фильтрованное	5.2
16		Чешский темный лагер	Dark Lager	Чехия	Темное фильтрованное	3.8

При этом формировали группы напитков по типам брожения и сортам (табл. 1).

Кулонометрическое определение проводили на анализаторе Эксперт-006 (ООО “Эконикс-Эксперт”, Россия). Электрогенерацию брома, гексацианоферрат(III)-ионов и иода осуществляли из 0.2 М раствора KBr в 0.1 М H₂SO₄, 0.1 М K₄Fe(CN)₆ в 0.5 М растворе NaOH и 0.1 М раствора KI в ацетатном буферном растворе с pH 3.56 соответственно на Pt-электроде при постоянной силе тока 5.0 мА, обеспечивающей 100%-ный выход по току титрантов. В качестве катода использовали свернутую спиралью платиновую проволоку. Катодная камера со вспомогательным электродом была отделена от анодной камеры пористой стеклянной перегородкой. Конечную точку титрования определяли биамперометрически с платиновыми электродами ($\Delta E = 200$ мВ). Поверхность платиновых электродов очищали азотной кислотой с последующим промыванием дистиллированной водой.

В электрохимическую ячейку емк. 50 мл вносили 20.0 мл фонового электролита, помещали в ячейку электроды и включали генераторную цепь. По достижении индикаторным током определенного значения генераторная цепь автоматически отключалась и снова включалась одновременно с таймером после внесения аликвоты исследуемого АО или пива. Для титрования брали аликвоты с таким расчетом, чтобы время титрования не превышало 2 мин. Конечную точку титрования устанавливали по достижении индикаторным током первоначального значения. По времени титрования рассчитывали количество

электричества, затраченного на титрование образца, или число электронов по закону Фарадея для индивидуальных соединений.

Интегральную АОЕ, ЖВС и окисляемость по иоду определяли кулонометрическим титрованием образцов пива с помощью электрогенерированных брома, гексацианоферрат(III)-ионов [23–25, 27] и иода соответственно. Параметры выражали как количество электричества, затраченное на титрование образца, в пересчете на 1 л пива.

Общепринятые антиоксидантные показатели определяли спектрофотометрически на спектрофотометре ПЭ-5300 ВИ (НПО “Экрос”, Россия). Общее содержание фенольных соединений оценивали по методу Фолина–Чокальтеу [28] в эквивалентах галловой кислоты [29]. Антиоксидантную активность пива оценивали по реакции с ДФПГ* [30], которую выражали как соотношение интенсивностей поглощения ДФПГ* до и после реакции с антиоксидантами образца [31].

Статистическую обработку результатов проводили для пяти параллельных измерений (трех измерений для спектрофотометрии) при доверительной вероятности 0.95. Результаты представляли как $\bar{X} \pm \Delta\bar{X}$, где $\bar{X}$ – среднее значение и $\Delta\bar{X}$ – доверительный интервал. Случайную погрешность определения оценивали по величине относительного стандартного отклонения (s_r). Для установления значимости различий антиоксидантных параметров для пива различных типов и характеристик применяли t -критерий Стьюдента для независимых выборок. Корреляционный анализ проводили в программе OriginPro 8.0 (OriginLab, США).

Таблица 2. Стехиометрические коэффициенты реакций фенольных антиоксидантов с электрогенерированными титрантами ($n = 5$, $P = 0.95$)

Фенольный АО	$V_{\text{АО}} : V_{\text{титранта}}$	
	Br_2	$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$
Фенольные кислоты		
Галловая кислота	1 : 2	1 : 4
Ванилиновая кислота	1 : 1	—
Сиреневая кислота	1 : 1	—
<i>n</i> -Кумаровая кислота	1 : 3	1 : 1
Кофейная кислота	1 : 2	1 : 2
Феруловая кислота	1 : 2	—
Синаповая кислота	1 : 2	—
Хлорогеновая кислота	1 : 2	1 : 2
Флавоноиды		
Кверцетин	1 : 2	1 : 4
Рутин	1 : 2	1 : 4
Лютеолин	1 : 2	1 : 4
Катехин	1 : 2	1 : 4
Другие фенольные АО		
Танин	1 : 15	1 : 25

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Реакции антиоксидантов пива с электрогенерированными титрантами-окислителями. Изучена реакционная способность индивидуальных АО пива по отношению к кулонометрическим титрантам (бromу, гексацианоферрат(III)-ионам и иоду). Показано, что электрогенерированный иод, являясь достаточно слабым окислителем, не взаимодействует с фенольными АО. В реакцию с иодом вступает аскорбиновая кислота, которая окисляется с участием двух электронов до дегидроаскорбиновой кислоты. Аналогичная реакция протекает между аскорбиновой кислотой и остальными титрантами. Кроме того, в пиве содержатся серосодержащие соединения, в том числе тиоэфиры, полисульфиды и тиолы [32], ко-

торые поступают в пиво вместе с хмелем. Они окисляются электрогенерированными иодом и бромом с образованием сульфоксидов и сульфокислот соответственно [27].

Стехиометрические коэффициенты реакций электрогенерированных брома и гексацианоферрат(III)-ионов с фенольными АО пива представлены в табл. 2. Для большинства рассматриваемых соединений реакции протекают быстро и количественно. Полученные результаты хорошо согласуются с окислительной силой рассматриваемых титрантов. Гексацианоферрат(III)-ионы являются более слабым окислителем, чем бром, поэтому в реакцию с ними вступают фенольные гидроксилы в структуре рассматриваемых АО. Для ванилиновой, сиреневой, синаповой и феруловой кислот реакция с титрантом не протекает, что, вероятно, связано со стерическими факторами. Большее число электронов, участвующих в реакциях фенольных АО с электрогенерированным бромом, обусловлено тем, что этот титрант действует не только как окислитель, но и как реагент, вступающий в реакции электрофильного замещения в ароматическое кольцо и реакции электрофильного присоединения по кратным связям [27]. Такое поведение хорошо объясняет стехиометрические коэффициенты реакций электрогенерированного брома с гидроксibenзойными и гидроксикоричными кислотами.

Окисление флавоноидов и фенольных кислот протекает до соответствующих хинонов, причем для флавоноидов более реакционноспособным является пирокатехиновый фрагмент в кольце В [24]. При титровании галловой кислоты электрогенерированным бромом сначала образуется *орто*-хинон, способный вступать в последующие реакции нуклеофильного присоединения и димеризации [33]. В случае реакции с гексацианоферрат(III)-ионами, генерация которых протекает в щелочной среде, галловая кислота присутствует в растворе в виде димера (дегидродигалловая кислота), который образуется в ходе окисления аналита кислородом воздуха [34]. Таким образом, в реакции участвует четыре электрона, что соответствует образованию ди-*o*-хинона (схема 1).

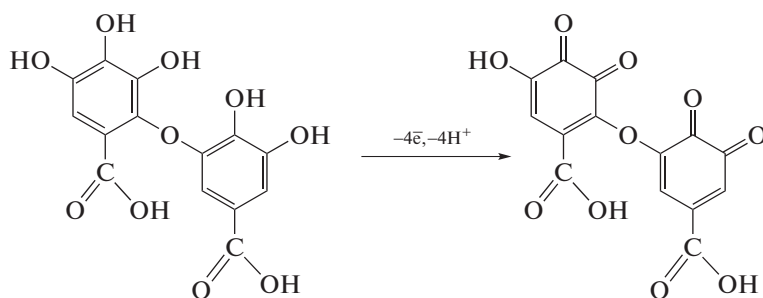


Схема 1. Электроокисление дегидродигалловой кислоты.

Таблица 3. Обобщенные антиоксидантные показатели пива по данным кулонометрического титрования ($n = 5$, $P = 0.95$)

Тип брожения	Стиль	№	Интегральная АОЕ, кКл/л	s_T	ЖВС, кКл/л	s_T	Окисляемость по иоду, кКл/л	s_T
Эль	Dry	1	1.24 ± 0.05	0.03	0.403 ± 0.008	0.01	0.080 ± 0.006	0.03
	English	2	1.45 ± 0.07	0.02	0.31 ± 0.04	0.05	0.074 ± 0.006	0.03
	Pale Red Ale	3	0.98 ± 0.01	0.006	0.29 ± 0.02	0.03	0.058 ± 0.001	0.01
	Hefeweizen	4	1.57 ± 0.02	0.006	0.32 ± 0.02	0.03	0.059 ± 0.003	0.04
	Witbier	5	2.50 ± 0.03	0.008	0.34 ± 0.01	0.02	0.059 ± 0.003	0.04
	Dunkelweizen	6	1.72 ± 0.02	0.006	0.42 ± 0.02	0.02	0.053 ± 0.002	0.04
	Abbey	7	1.32 ± 0.01	0.004	0.41 ± 0.01	0.01	0.073 ± 0.005	0.05
		8	1.86 ± 0.03	0.01	0.44 ± 0.02	0.03	0.070 ± 0.003	0.04
Лагер	Light Lager	9	1.52 ± 0.01	0.004	0.31 ± 0.02	0.03	0.055 ± 0.003	0.03
		10	1.34 ± 0.05	0.02	0.31 ± 0.04	0.05	0.061 ± 0.003	0.02
		11	1.42 ± 0.02	0.007	0.48 ± 0.02	0.02	0.079 ± 0.005	0.04
	Doppelbock	12	2.9 ± 0.1	0.02	0.82 ± 0.05	0.03	0.089 ± 0.009	0.04
	Munich Helles Lager	13	1.26 ± 0.02	0.008	0.31 ± 0.04	0.05	0.065 ± 0.004	0.05
		14	1.44 ± 0.02	0.007	0.26 ± 0.01	0.02	0.055 ± 0.003	0.05
		15	1.27 ± 0.04	0.01	0.33 ± 0.04	0.05	0.079 ± 0.002	0.01
	Dark Lager	16	1.51 ± 0.04	0.02	0.45 ± 0.04	0.03	0.08 ± 0.01	0.05

Для танина число электронов, принимающих участие в реакции с гексацианоферрат(III)-ионами, совпадает с числом гидроксильных групп. В случае титрования танина электрогенирированным бромом в реакции участвуют 30 электронов, что предполагает сложный путь его окисления. Полученные стехиометрические коэффициенты согласуются с данными [27], что позволяет говорить о правильности полученных результатов.

Таким образом, кулонометрическое титрование с электрогенирированным бромом, иодом и гексацианоферрат(III)-ионами можно использовать для оценки антиоксидантных свойств пива.

Обобщенные антиоксидантные показатели пива. Оценены обобщенные антиоксидантные показатели пива, в частности, интегральная АОЕ по реакции с электрогенирированным бромом, ЖВС по реакции с электрогенирированными гексацианоферрат(III)-ионами и окисляемость по иоду (табл. 3). Установлено, что интегральная АОЕ примерно в 3.5 раза больше, чем ЖВС, причем независимо от типа образца. Исключение составляет стиль Witbier, для которого это соотношение равно 7.5, что, вероятно, связано с особенностями технологии изготовления. Окисляемость по иоду статистически достоверно ниже, чем остальные параметры, что связано с низким содержанием летучих тиолов [35] и аскорбиновой кислоты в пиве [36]. В целом полученная тенденция изменения обобщенных антиоксидантных параметров хорошо согласуется с реакционной способностью фенольных АО пива по отношению к титрантам.

Несколько неожиданной оказалась близость абсолютных значений обобщенных антиоксидантных показателей для большинства исследованных образцов независимо от того, к какому типу брожения, сорту и стилю они относятся. Частично это согласуется с данными [13] по антиоксидантным показателям пива различного происхождения. Исключение составляют лишь стили Pale Red Ale, Witbier и Doppelbock, для которых получены значимо более низкие (Pale Red Ale) и более высокие значения (Witbier и Doppelbock) параметров. При этом сорт бок стиль Doppelbock (двойной бок низового брожения) показал максимальные значения всех антиоксидантных параметров, что объясняется технологией изготовления такого пива, предполагающей дополнительное выдерживание в холодных подвалах в течение нескольких месяцев до дображивания, а также использование нескольких сортов солода [37]. При этом пиво характеризуется высокой экстрактивностью начального сусла (18.3%) и крепостью 7.9 об. %.

Установлено, что тип брожения значимо не влияет на антиоксидантные параметры, так как для эля и лагера средние значения интегральной АОЕ одинаковы ($p = 0.99$), а различие ЖВС и окисляемости по иоду статистически не значимы ($p = 0.55$ и 0.43 соответственно) (рис. 1а). Сопоставление результатов по обобщенным антиоксидантным показателям для фильтрованного и нефильтрованного светлого и темного пива (рис. 1б) показало, что значение интегральной

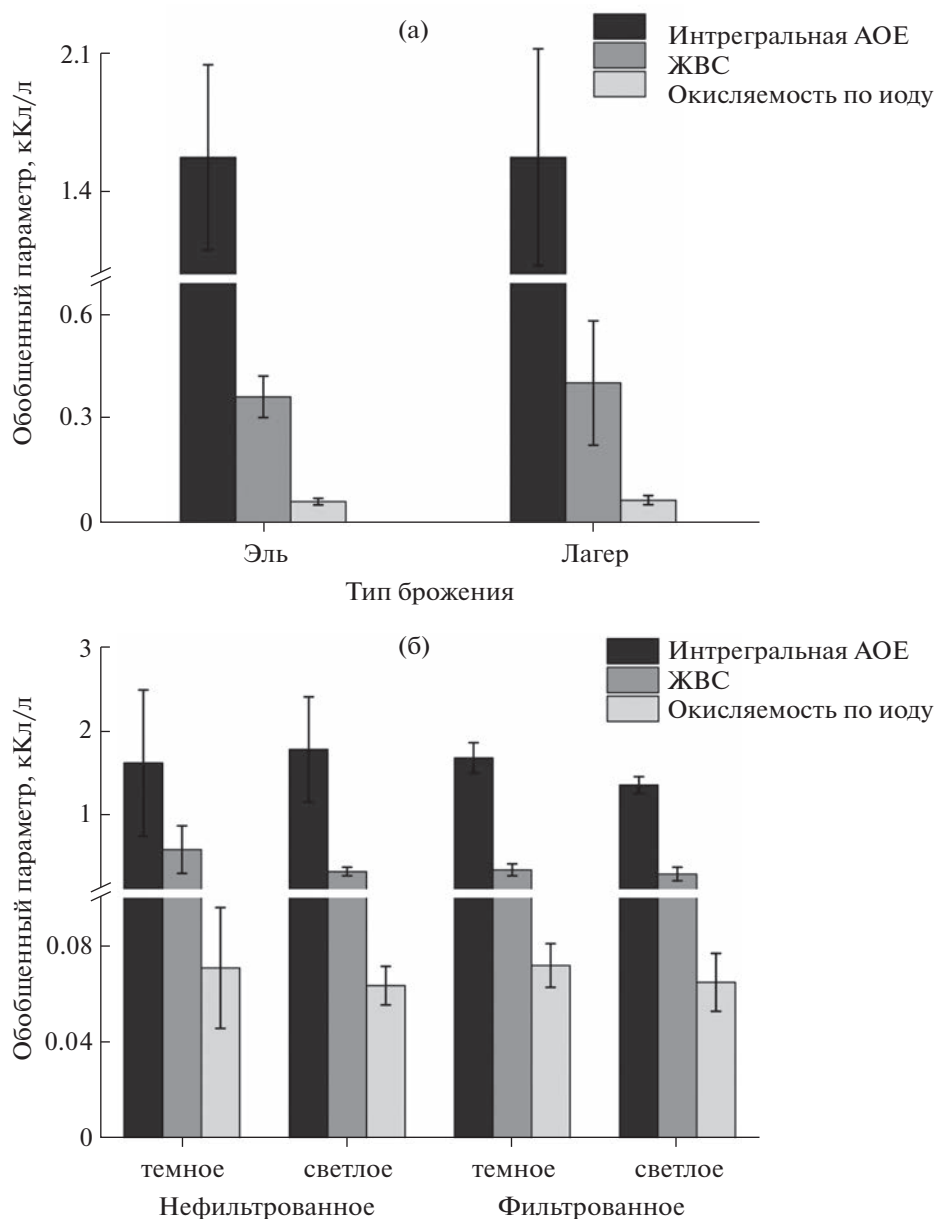


Рис. 1. Обобщенные антиоксидантные показатели пива в зависимости от типа брожения (а) и характеристик (б).

АОЕ выше для светлого нефильтрованного пива, а ЖВС и окисляемость по иоду — для темного нефильтрованного пива, но все различия статистически незначимы ($p = 0.10-0.82$). Частично это объясняется малым числом образцов нефильтрованного пива и сильно отличающимися результатами для них.

Полученные с помощью кулонометрического титрования показатели сопоставили с общепринятыми антиоксидантными параметрами (общим содержанием фенольных соединений и антиоксидантной активностью). Установлены статистически значимые положительные корреляции (табл. 4), а значения коэффициентов корреляции для инте-

гральной АОЕ и ЖВС подтверждают наличие высокой связи между параметрами ($r_{\text{крит}} = 0.4973$) согласно шкале Чеддока. Как и следовало ожидать, для окисляемости по иоду корреляция с общим содержанием фенольных соединений не наблюдается, что объясняется природой соединений, вносящих вклад в этот параметр, в частности, серосодержащих соединений и аскорбиновой кислоты. В случае антиоксидантной активности можно говорить о слабой корреляции, что, вероятно, обусловлено вкладом в оба параметра аскорбиновой кислоты.

Оценили изменение обобщенных антиоксидантных показателей пива при его хранении на

Таблица 4. Коэффициенты корреляции обобщенных антиоксидантных показателей пива по данным кулонометрии и спектрофотометрии ($n = 16$, $P = 0.95$)

Параметр	Общее содержание фенольных соединений, мг галловой кислоты/л	Антиоксидантная активность, %
Интегральная АОЕ, кКл/л	0.8349	0.7175
ЖВС, кКл/л	0.8703	0.8251
Окисляемость по иоду, кКл/л	0.3565	0.5463

воздухе в течение 33 дней (рис. 2). Установлено, что интегральная АОЕ и ЖВС изменяются незначительно. Интегральная антиоксидантная ем-

кость увеличивается в течение 28 дней и продолжает увеличиваться для темного нефilterованного пива сорт бок (образец 12), а для светлого пива (нефилтрованного образца 7) и фильтрованного (образец 11) происходит колебание значений (рис. 2а), причем изменения для всех образцов статистически незначимы. ЖВС незначимо уменьшается в течение всего времени (рис. 2б). Полученные данные для темного пива согласуются с описанными ранее [38] и связаны с образованием на стадии обжарки солода меланоидинов, которые могут вступать в реакции с титрантами и более устойчивы к воздействию кислорода воздуха. Окисляемость по иоду для всех рассмотренных образцов пива уменьшается (рис. 2в) по мере увеличения срока хранения на воздухе, что объясняется окислением аскорбиновой кислоты и серосодержащих соединений.

Таким образом, кулонометрическое титрование и получаемые обобщенные антиоксидантные показатели можно успешно использовать для экспрессного скрининга образцов пива. Варьирование природы титранта позволяет оценивать вклад АО различных типов с целью контроля их общего содержания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Vanderhaegen B., Neven H., Verachtert H., Derdelinckx G.* The chemistry of beer aging – A critical review // *Food Chem.* 2006. V. 95. № 3. P. 357. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.006>
2. *Quijfer-Rada P., Vallverdú-Queralt A., Martínez-Huélamo M., Chiva-Blanch G., Jáuregui O., Estruch R., Lamuela-Raventós R.* A comprehensive characterisation of beer polyphenols by high resolution mass spectrometry (LC–ESI–LTQ–Orbitrap–MS) // *Food Chem.* 2015. V. 169. P. 336. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.154>
3. *Iyuke S.E., Madigoe E.M., Maponya R.J.* The effect of hydroxycinnamic acids and volatile phenols on beer quality // *Inst. Brew.* 2008. V. 114. № 4. P. 300. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2008.tb00773.x>
4. *Coghe S., Benoot K., Delvaux F., Vanderhaegen B., Delvaux F.R.* Ferulic acid release and 4-vinylguaiacol formation during brewing and fermentation: Indications for feruloyl esterase activity in *Saccharomyces cerevisiae* // *J. Agric. Food. Chem.* 2004. V. 52. № 3. P. 602. <https://doi.org/10.1021/jf0346556>

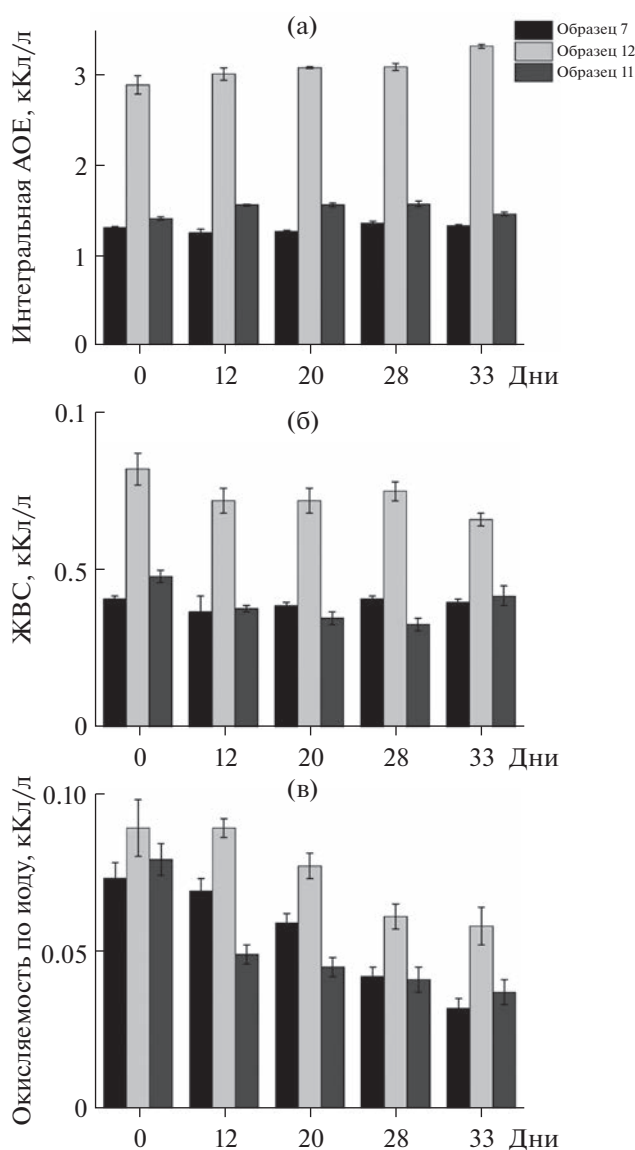


Рис. 2. Изменение интегральной антиоксидантной емкости (а), железовосстанавливающей способности (б) и окисляемости по иоду (в) пива при хранении на воздухе.

5. Bonoli M., Marconi E., Caboni M.F. Free and bound phenolic compounds in barley (*Hordeum vulgare* L.) flours: Evaluation of the extraction capability of different solvent mixtures and pressurized liquid methods by micellar electrokinetic chromatography and spectrophotometry // J. Chromatogr. A. 2004. V. 1057. № 1–2. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.09.024>
6. Meilgaard M.C. Flavor chemistry of beer: part II: flavour and threshold of 239 aroma volatiles // MBAA TQ. 1975. V. 12. № 3. P. 151.
7. Carvalho D.O., Curto A.F., Cuido L.F. Determination of phenolic content in different barley varieties and corresponding malts by liquid chromatography-diode array detection-electrospray ionization tandem mass spectrometry // Antioxidants. 2015. V. 4. № 3. P. 563. <https://doi.org/10.3390/antiox4030563>
8. Maillard M.N., Soum M.H., Boivin P., Berset C. Antioxidant activity of barley and malt: Relationship with phenolic content // LWT – Food Sci. Technol. 1996. V. 29. № 3. P. 238. <https://doi.org/10.1006/fstl.1996.0035>
9. Lu J., Zhao H., Chen J., Fan W., Dong J., Kong W., Sun J., Cao Y., Cai G. Evolution of phenolic compounds and antioxidant activity during malting // J. Agric. Food Chem. 2007. V. 55. № 26. P. 10994. <https://doi.org/10.1021/jf0722710>
10. Goupy P., Hugues M., Boivin P., Amiot M. Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds // J. Sci. Food Agric. 1999. V. 79. № 12. P. 1625. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199909\)79:12<1625::AID-JSFA411>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199909)79:12<1625::AID-JSFA411>3.0.CO;2-8)
11. Lentz M. The impact of simple phenolic compounds on beer aroma and flavor // Fermentation. 2018. V. 4. № 1. Article 20. <https://doi.org/10.3390/fermentation4010020>
12. Jandera P. Methods for the HPLC analysis of phenolic compounds and flavonoids in beer / Beer in Health and Disease Prevention / Ed. Preedy V.R. Amsterdam: Elsevier, 2009. P. 1003. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373891-2.00098-5>
13. Zhao H., Chen W., Lu J., Zhao M. Phenolic profiles and antioxidant activities of commercial beers // Food. Chem. 2010. V. 119. № 3. P. 1150. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.028>
14. Mitić S.S., Paunović D.D., Pavlović A.N., Tošić S.B., Stojković M.B., Mitić M.N. Phenolic profiles and total antioxidant capacity of marketed beers in serbia // Int. J. Food Prop. 2014. V. 17. № 4. P. 908. <https://doi.org/10.1080/10942912.2012.680223>
15. Socha R., Pajak P., Fortuna T., Buksa K. Antioxidant activity and the most abundant phenolics in commercial dark beers // Int. J. Food Prop. 2017. V. 20. № S1. P. S595. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1306550>
16. García-Guzmán J.J., López-Iglesias D., Cubillana-Aguilera L., Lete C., Lupu S., Palacios-Santander J.M., Bellido-Milla D. Assessment of the polyphenol indices and antioxidant capacity for beers and wines using a tyrosinase-based biosensor prepared by sinusoidal current method // Sensors. 2019. V. 19. № 1. Article 66. <https://doi.org/10.3390/s19010066>
17. Cummings E.A., Mailley P., Linquette-Mailley S., Eggins B.R., McAdams E.T., McFadden S. Amperometric carbon paste biosensor based on plant tissue for the determination of total flavanol content in beers // Analyst. 1998. V. 123. № 10. P. 1975. <https://doi.org/10.1039/A804021D>
18. Hlavatá L., Vyskočil V., Beníková K., Borbélyová M., Labuda J. DNA-based biosensors with external Nafion and chitosan membranes for the evaluation of the antioxidant activity of beer, coffee, and tea // Cent. Eur. J. Chem. 2014. V. 12. № 5. P. 604. <https://doi.org/10.2478/s11532-014-0516-4>
19. Gorjanović S.Z., Novaković M.M., Potkonjak N.I., Leskosek-Cukalović I., Suznjević D.Z. Application of a novel antioxidative assay in beer analysis and brewing process monitoring // J. Agric. Food Chem. 2010. V. 58. № 2. P. 744. <https://doi.org/10.1021/jf903091n>
20. Ziyatdinova G., Ziganshina E., Nguyen Cong Ph., Budnikov H. Ultrasound-assisted micellar extraction of phenolic antioxidants from spices and antioxidant properties of the extracts based on coulometric titration data // Anal. Methods. 2016. V. 8. № 39. P. 7150. <https://doi.org/10.1039/c6ay02112c>
21. Зиятдинова Г.К., Нгуен Конг Ф., Будников Г.К. Оценка антиоксидантных свойств мицеллярных экстрактов специй методом гальваностатической кулонометрии с электрогенерированными гексацианоферрат(III)-ионами // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70. № 8. С. 854. (Ziyatdinova G.K., Nguen Cong F., Budnikov H.C. Assessment of the antioxidant properties of micellar spice extracts by galvanostatic coulometry with electrogenerated hexacyanoferrate(III) ions // J. Anal. Chem. 2015. V. 70. № 8. P. 974.) <https://doi.org/10.1134/S1061934815080195>
22. Зиятдинова Г.К., Будников Г.К. Мицеллярная экстракция активных компонентов из специй и оценка церий восстанавливающей способности извлечений // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 9. С. 812. (Ziyatdinova G.K., Budnikov H.C. Micellar extraction of active components from spices and evaluation of the Ce(IV)-based reducing capacity of the extracts // J. Anal. Chem. 2021. V. 76. № 9. P. 1065.) <https://doi.org/10.1134/S1061934821090124>
23. Ziyatdinova G., Nizamova A., Budnikov H. Novel coulometric approach to evaluation of total free polyphenols in tea and coffee beverages in presence of milk proteins // Food Anal. Methods. 2011. V. 4. № 3. P. 334. <https://doi.org/10.1007/s12161-010-9174-0>
24. Низамова А.М., Зиятдинова Г.К., Будников Г.К. Электрогенерированный бром – кулонометрический реагент для оценки биодоступности полифенолов // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66. № 3. С. 308. (Nizamova A.M., Ziyatdinova G.K., Budnikov G.K. Electrogenerated bromine as a coulometric reagent for the estimation of the bioavailability of polyphenols // J. Anal. Chem. 2011. V. 66. № 3. P. 301.) <https://doi.org/10.1134/S1061934811010114>
25. Ziyatdinova G., Salikhova I., Budnikov H. Coulometric titration with electrogenerated oxidants as a tool for evaluation of cognac and brandy antioxidant pro-

- perties // Food Chem. 2014. V.150. P. 80.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.133>
26. Абдуллин И.Ф., Турова Е.Н., Гайсина Г.Х., Будников Г.К. Применение электрогенерированного брома для оценки интегральной антиоксидантной способности лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе // Журн. аналит. химии. 2002. Т. 57. № 6. С. 666. (Abdullin I.F., Turova E.N., Gaisina G.Kh., Budnikov G.K. Use of electrogenerated bromine for estimating the total antioxidant capacity of plant raw materials and plant-based medicinal preparations // J. Anal. Chem. 2002. V. 57. № 6. P. 557.)
<https://doi.org/10.1023/A:1015758221044>
27. Ziyadinova G., Budnikov H. Analytical capabilities of coulometric sensor systems in the antioxidants analysis // Chemosensors. 2021. V. 9. № 5. Article 91.
<https://doi.org/10.3390/chemosensors9050091>
28. Singleton V.L., Rossi J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents // Am. J. Enol. Vitic. 1965. V.16. № 3. P. 144.
29. Fu L., Xu B.-T., Gan R.-Y., Zhang Y., Xu X.-R., Xia E.-Q., Li H.-B. Total phenolic contents and antioxidant capacities of herbal and tea infusions // Int. J. Mol. Sci. 2011. V. 12. № 4. P. 2112.
<https://doi.org/10.3390/ijms12042112>
30. Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity // LWT – Food Sci. Technol. 1995. V. 28. № 1. P. 25.
[https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
31. Radovanović B., Radovanović A. Free radical scavenging activity and anthocyanin profile of cabernet sauvignon wines from the Balkan region // Molecules. 2010. V. 15. № 6. P. 4213.
<https://doi.org/10.3390/molecules15064213>
32. Lermusieau G., Collin S. Volatile sulfur compounds in hops and residual concentrations in beer – A review // J. Am. Soc. Brew. Chem. 2003. V. 61. № 3. P. 109.
<https://doi.org/10.1094/ASBCJ-61-0109>
33. Feldman K.S., Quideau S., Appel H.M. Galloyl-derived orthoquinones as reactive partners in nucleophilic additions and Diels-Alder dimerizations: A novel route to the dehydridigalloyl linker unit of agrimoniin-type ellagitannins // J. Org. Chem. 1996. V. 61. № 19. P. 6656.
<https://doi.org/10.1021/jo961043u>
34. Oniki T., Takahama U. Free radicals produced by the oxidation of gallic acid and catechin derivatives // J. Wood Sci. 2004. V. 50. № 6. P. 545.
<https://doi.org/10.1007/s10086-003-0591-1>
35. Miracle R.E., Ebeler S.E., Bamforth C.W. The measurement of sulfur-containing aroma compounds in samples from production-scale brewery operations // J. Am. Soc. Brew. Chem. 2005. V. 63. № 3. P. 129.
<https://doi.org/10.1094/ASBCJ-63-0129>
36. Marshall P.A., Trenerry V.C., Thompson C.O. The determination of total ascorbic acid in beers, wines, and fruit drinks by micellar electrokinetic capillary chromatography // J. Chromatogr. Sci. 1995. V. 33. № 8. P. 426.
<https://doi.org/10.1093/chromsci/33.8.426>
37. Richman D. Bock (Classic Beer Style Series Book 9). Boulder: Brewers Publications, 1994. 174 p.
38. Coghe S., Gheeraert B., Michiels A., Delvaux F.R. Development of Maillard reaction related characteristics during malt roasting // J. Inst. Brew. 2006. V. 112. № 2. P. 148.
<https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2006.tb00244.x>

В НАУЧНОМ СОВЕТЕ РАН ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

46-я ГОДИЧНАЯ СЕССИЯ СОВЕТА

DOI: 10.31857/S0044450223040096, EDN: KZJNCA

46-я Годичная сессия совета состоялась 26 сентября 2022 г. в рамках IV Съезда аналитиков России (25–30 сентября 2022 г., Москва), Программа сессии включила вступительное слово председателя совета академика РАН Ю.А. Золотова¹, вручение премий совета за 2021 г., доклад д. х. н., профессора О.Б. Рудакова о научных итогах 2021 г., сообщение ученого секретаря совета к. х. н. И.Н. Киселевой о научно-организационной работе совета в 2021–2022 гг. и планах на 2023–2024 гг., отчет о работе Центрального отделения совета (председатель Г.И. Цизин), отчет о работе комиссии по хеометрике (председатель Д.О. Кирсанов), а также обсуждение состояния российских журналов аналитического профиля.

Премии совета за 2021. В номинации “За существенный вклад в развитие аналитической химии” премия была вручена д. х. н., профессору Вячеславу Исааковичу Вершинину (Омский государственный университет), награжденному за значительный вклад в решение проблем, связанных с использованием интегральных показателей в аналитической химии и активную работу в Научном совете РАН по аналитической химии. Молодежная премия совета вручена к. х. н., с. н. с. М.С. Ермолину и к. х. н., н. с. А.И. Иванееву (ГЕОХИ РАН) “За разработку комплексного подхода к выделению и анализу наночастиц окружающей среды”. Премии м. н. с. А.С. Ужель (МГУ им. М.В. Ломоносова) “За разработку новых подходов к формированию ковалентно привитых функциональных слоев анионообменников с различной структурой” и м. н. с. С.А. Бабин и инженеру-электронику А.А. Дзюбе (Институт автоматики и электрометрии СО РАН, Новосибирск) “За создание новых спектрометров для метода сцинтилляционной атомно-эмиссионной спектроскопии” в связи с отсутствием лауреатов были вручены коллегам из МГУ и СО РАН для передачи лауреатам (фото 1).

Научные итоги 2021 г. О.Б. Рудаков в докладе “Основные достижения и тенденции развития аналитической химии в России на основе материалов отчета НСАХ РАН за 2021 г.” сообщил, что в совет поступило 180 аннотаций работ по 29 направлениям аналитической химии примерно от 40% членов совета из 28 городов России. По числу представленных работ лидируют аналитики из

Москвы, и по убыванию — из Воронежа, Саратова, Краснодара, Екатеринбурга, Санкт-Петербурга, Казани. По числу присланных работ лидирующими направлениями исследований в России являются методы разделения и концентрирования, хроматографические методы, масс-спектрометрия, хеометрика, химические сенсоры (без электрохимических), биохимические методы, наноаналитика. Докладчик отметил, что мало представлено работ по созданию приборов и установок, мало информации о практических внедрениях разработанных методик, нет работ по определению микро- и нанопластика в окружающей среде и продукции. По его мнению, снижается число и качество отечественных монографий в области аналитической химии. Высказано пожелание включать в отчет информацию о грантах. Дискуссию вызвало пожелание докладчика размещать в РИНЦ наиболее значимые разработки, диссертации и книги.

Научно-организационная деятельность совета. В своем сообщении И.Н. Киселева перечислила мероприятия, организованные советом в 2021 г. — участие в научной программе 10-ой Международной выставки “АналитикаЭкспо 2021” (Москва, 13–16 апреля 2021 г.) с двумя семинарами — “Аналитические методы подтверждения эффективности и безопасности фармацевтических препаратов” (ведущий д. х. н. Г.Б. Голубицкий) и “Определение лекарственных веществ в медицинских объектах” (ведущий д. х. н. А.И. Ревельский); проведение Сибирским отделением совета XI Научной конференции и школы молодых ученых “Аналитика Сибири и Дальнего Востока”, посвященной 100-летию со дня рождения И.Г. Юделевича (Новосибирск, 16–20 августа); организация и проведение Комиссией по разделению и концентрированию совета совместно с Кубанским государственным университетом VI Всероссийского симпозиума “Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии” (Краснодар, пансионат Орбита, 26 сентября–2 октября). В рамках этой конференции прошла 45-я Годичная сессия совета. В 2022 г. Комиссия по хеометрике провела с 28 февраля по 4 марта Зимний симпозиум по хеометрике в онлайн-формате, Центральное отделение совета организовало два семинара на 20-ой Международной выставке “АналитикаЭкспо 2022” (Москва, 19–22 апреля) — “Современные масс-спектрометрические методы для биомедицинских исследова-

¹ Печатается отдельно.



Рис. 1. Д. х. н. Е.В. Шабанова передает диплом лауреату молодежной премии совета за 2021 г. А.А. Дзюбе на заседании Ученого совета ИАиЭ СО РАН.

ний” (ведущий – В.Е. Франкевич, Сколково) и “Аналитический контроль нефти и нефтепродуктов” (ведущие д. х. н. Т.А. Марютина (ГЕОХИ РАН) и к. х. н. Е.А. Новиков (РГУ нефти и газа им. И.М. Губкина)). В план мероприятий 2023 г. включена IV Всероссийская конференция по аналитической спектроскопии (Краснодар, пансионат Орбита, 24–30 сентября), подготовкой которой занимается Комиссия по спектроскопическим методам анализа и Кубанский государственный университет. В 2024 г. Комиссия по электрохимическим методам анализа планирует провести XI Всероссийскую конференцию по электрохимическим методам анализа “ЭМА-2024” (Екатеринбург, май–июнь 2024 г.).

Работа Центрального отделения совета. Д. х. н., профессор Г.И. Цизин перечислил вошедшие в состав отделения регионы: Москва и Московская область, Тульская, Тверская, Смоленская, Владимирская, Ярославская, Ивановская, Костромская, Калужская и Рязанская области. К работе в отделении были привлечены, помимо московских аналитиков, специалисты из Владимирского и Ивановского химико-технологических университетов, а также из Военной академии радиационно-химической защиты в Костроме. Помимо

участия членов отделения в плановых мероприятиях совета, Центральное отделение инициировало возобновление работы Московского семинара по аналитической химии, сопредседателями которого являются А.В. Иванов (ИОНХ РАН), П.Н. Нестеренко (МГУ) и П.С. Федотов (ГЕОХИ РАН), ученый секретарь Е.А. Захарченко (ГЕОХИ РАН). Предполагается проведение семинаров на площадках ГЕОХИ РАН, ИОНХ РАН и МГУ им. М.В. Ломоносова. Г.И. Цизин является главным организатором научных семинаров на выставках “АналитикаЭкспо”. Были представлены программы этих семинаров с 2018 г. по настоящее время.

Работа Комиссии по хеометрике. Д. х. н., профессор Д.О. Кирсанов представил состав комиссии, рассказал о прошедшем с 28 февраля по 4 марта 2022 г. в режиме онлайн Зимнем симпозиуме по хеометрике, собравшем 50 участников. В программе симпозиума были 44 доклада, в том числе 6 приглашенных пленарных, 13 флэш-презентаций для молодых ученых. Из лучших работ сформирован специальный выпуск *Journal of Chemometrics*. Комиссия организовала и провела на выставке “АналитикаЭкспо 2022” 19 апреля 2022 г. конференцию “Химические сенсоры: раз-

работка и применение”. В 12 устных докладах были представлены сенсоры для анализа химического состава газов и жидкостей, мультисенсорные системы, применение в промышленности, обработка данных.

Состояние российских журналов аналитического профиля. В обсуждении состояния российских журналов аналитического профиля приняли участие д. х. н. М.К. Беклемишев — зам. главного редактора “Журнала аналитической химии”; д. х. н. З.А. Темердашев — член редколлегии журнала “Аналитика и контроль”, член-корр. РАН О.А. Шпигун — член редколлегии журнала “Заводская лаборатория. Диагностика материалов”, к. х. н. Р.С. Борисов — член редколлегии журнала “Масс-спектрометрия”, д. х. н. О.Б. Рудаков — зам. главного редактора журнала “Сорбционные и хроматографические процессы” и д. х. н. В.Б. Барановская — главный редактор журнала “Аналитика”. Все названные журналы зарегистрированы в системе eLibrary, индексируются в РИНЦ, входят в перечень журналов, рекомендованных ВАК.

М.К. Беклемишев сообщил, что с июня 2021 г. бюро ОХНМ утвердило новый состав редколлегии “Журнала аналитической химии”, академик РАН Ю.А. Золотов — почетный главный редактор журнала, член-корр. РАН В.П. Колотов — главный редактор, редколлегия расширена до 24 человек. Импакт-фактор журнала в 2021 г. — 1.237. В год в редакцию поступает более 300 статей, около 100 от российских авторов, остальные из-за рубежа. Срок публикаций — от 7 до 12 мес. В 2022 г. было организовано 8 спецвыпусков, посвященных химическим сенсорам, анализу биомедицинских объектов, развитию аналитической химии в Казани и Саратове, юбилею академика РАН Ю.А. Золотова. Представленные сведения говорят об устойчивом состоянии журнала и его достаточно большой популярности в России и мире.

О бедственном положении журнала “Аналитика и контроль” от имени главного редактора А.А. Пупышева рассказал З.А. Темердашев. Журнал издается регулярно с осени 1997 г. по четыре номера в год на русском и английском языках. Учредитель и издатель журнала с 2012 г. — УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина². Журнал имеет большой авторитет среди аналитиков страны. Его финансирование до 2020 г. осуществлялось из программы 5-100-2020 — правительственной субсидии, выделенной ведущим университетам России, в том числе и УрФУ, на мероприятия по повышению международной конкурентоспособности вузов. С 2020 г. действие

программы и, соответственно, финансирование журнала прекратилось. А.А. Пупышев, прикладывавший огромные усилия для поддержания деятельности журнала, объявил, что из-за отсутствия официального финансирования дальнейшее издание журнала невозможно, и он вынужден снять с себя полномочия главного редактора.

В обсуждении проблемы с журналом “Аналитика и контроль” выступили Ю.А. Золотов, И.Е. Васильева, Е.В. Шабанова (ИГХ СО РАН, Иркутск), А.Н. Козицына (УрФУ). А.Н. Козицыной была передана просьба довести до сведения руководства УрФУ мнение аналитического сообщества о желательности восстановления финансирования журнала. По результатам этого обсуждения Ю.А. Золотов направил письмо ректору УрФУ В.А. Кокшарову с просьбой поддержать журнал “Аналитика и контроль”, “который стал важным источником информации для широкого круга специалистов. За 25-летний период своего существования журнал стал одним из ключевых изданий среди российских журналов аналитического профиля. По показателям цитируемости он занимает среди этих журналов устойчивое второе место, пользуется большим уважением аналитического сообщества, входит в рецензируемые профильные научные издания, индексируемые Scopus”.

Журнал “Заводская лаборатория. Диагностика материалов”, учрежденный в 1932 г., представлен в базах данных CAS (pt), GeoRef основной; CAS (core), EBSCO, Springer, SCOPUS (с 2021 г.). Импакт-фактор РИНЦ (2020) — 0.428. Англоязычная версия (“*Inorganic materials*”) представлена выборочно переведенными статьями. Периодичность — 12 выпусков в год, срок рассмотрения статей — 3–5 мес. Главный редактор — член-корр. РАН Махутов Николай Андреевич (Институт машиностроения РАН). Редакционная коллегия — 20 человек. В журнале три секции: анализ вещества (председатель член-корр. РАН О.А. Шпигун); исследование структуры и свойств (председатель д. т. н. Ю.Г. Матвиенко); математические методы исследования (председатель — член-корр. РАН Д.А. Новиков). Журнал работает на базе Института металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН.

Журнал “Масс-спектрометрия” учрежден Всероссийским масс-спектрометрическим обществом в 2004 г. Переводится на английский язык. Представлен в WOS-1,069, Scopus. РИНЦ — 0.583. Число научных публикаций — от 30 до 60 в год. Финансирование осуществляется за счет рекламных материалов на обложке, подписки, прямого финансирования со стороны ВМСО.

Журнал “Сорбционные и хроматографические процессы” основан в 2000 г., является преемником сборников статей “Теория и практика сорбцион-

² История возникновения и функционирования журнала представлена в статье А.А. Пупышева “Журналу “Аналитика и контроль” — 25 лет”. (Аналитика и контроль. 2021. Т. 25. № 3. С. 358–362.)

ных процессов”, выходявших с 1966 по 1999 гг. Главный редактор — д. х. н. В.Ф. Селеменев, в редакционной коллегии 29 человек. Журнал индексируется в базах данных CA, SCOPUS (с 2020 г.), Scimago Journal & Country Rank с индексом за 2021 г. 0.15, RSCI — 0.594. Срок выхода статьи 2–3 мес. За 2021 г. опубликовано 98 статей. К каждой статье приводится расширенная аннотация на английском языке. Тематики подаваемых в журнал статей за последние годы — применение хроматографических методов, сорбционных и мембранных технологий для изучения реальных объектов, использование сенсоров, анализ биологических систем.

Научно-технический журнал “Аналитика” выходит с 2011 г. Основная цель журнала — формирование единого информационного простран-

ства для взаимодействия науки, бизнеса и государства. Редакционный совет — 16 человек. Периодичность издания — 6 номеров в год, тираж — 4500 экз. Целевая аудитория — руководители и специалисты ведущих российских компаний и предприятий, научных институтов и лабораторий, преподаватели, аспиранты и студенты профильных высших учебных заведений. Распространяется через редакционную подписку, подписку через почтовые отделения, раздается бесплатно на выставках, форумах, конференциях.

В заключительном слове Ю.А. Золотов призвал утвердить отчет о работе совета в 2021 г., что и было сделано.

И.Н. Киселева

**В НАУЧНОМ СОВЕТЕ РАН
ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

**ВСТУПИТЕЛЬНОЕ СЛОВО ПРЕДСЕДАТЕЛЯ НАУЧНОГО СОВЕТА РАН
ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ АКАДЕМИКА РАН Ю.А. ЗОЛотова
НА 46-Й СЕССИИ СОВЕТА 26 СЕНТЯБРЯ 2022 Г.**

DOI: 10.31857/S0044450223040199, EDN: LAFHSQ

Глубокоуважаемые коллеги! Эта сессия научного совета — 46-я по счету, что само по себе звучит внушительно. Однако надо иметь в виду, что отсчет ведется с 1976 г., а научный совет и до этого существовал в течение 36 лет, из них 30 лет назывался Комиссией по аналитической химии АН СССР. Я думаю, что таких долгоживущих и активно работающих советов в Академии наук, может быть, больше и нет.

Предыдущая сессия совета состоялась год назад в пос. Ольгинка Краснодарского края. За прошедший год члены совета удостоены ряда наград. Доктор физико-математических наук Л.Н. Галль в марте 2022 г. награждена международной медалью имени Дж. Томсона, присуждаемой Международным масс-спектрометрическим фондом, “в знак признания большого вклада в мировую масс-спектрометрию”. Член-корреспондент РАН доктор химических наук В.П. Колотов получил международную медаль имени Г. Хевеши за вклад в развитие ядерно-физических методов анализа.

За прошедший после предыдущей сессии совета год несколько членов научного совета отметили свои юбилеи. 100 лет исполнилось бывшему члену совета известному ученому в области электрохимических методов Якову Иосифовичу Турьяну, проживающему сейчас в США. 85-летний рубеж перешагнули Г.К. Будников и Л.Н. Москвин, 75 лет исполнилось Б.К. Зуеву, А.А. Курганову, В.Н. Майстренко, Е.Н. Николаеву, А.А. Пупышеву, И.В. Рыбальченко, Н.А. Улаховичу, В.М. Шкиневу и О.А. Шпигуну. 70-летие отметили И.Г. Зенкевич, В.П. Колотов, А.Ш. Рамазанов, 65-летие — В.Г. Амелин, А.А. Евстапов, А.Т. Лебедев, С.В. Темерев, Г.И. Цизин, 60-летие — Г.А. Евтюгин, В.Н. Лосев, И.А. Платонов, 50 лет исполнилось С.В. Романенко. Юбилеи отметили С.С. Бабкина, С.С. Гражулене, Н.А. Колпакова,

Т.А. Марютина, Т.Н. Шеховцова, Л.К. Шпигун. Всем юбилярам наши поздравления и добрые пожелания здоровья, благополучия, успехов.

К сожалению, за истекший год мы потеряли нескольких коллег. 10 ноября 2021 г. ушел из жизни доктор химических наук Игорь Владимирович Плетнев, ведущий научный сотрудник кафедры аналитической химии МГУ. 11 ноября скончался известный специалист по колебательной спектроскопии член-корреспондент РАН Лев Александрович Грибов, ряд лет руководивший аналитическим отделом ГЕОХИ РАН. 28 ноября мы потеряли доктора химических наук Маргариту Сергеевну Черновьянц, которая длительное время заведовала кафедрой аналитической химии Ростовского (Южно-Русского) университета. 9 марта 2022 г. ушла из жизни к. х. н. Галина Васильевна Прохорова, специалист по электрохимическим методам анализа, доцент МГУ. 8 апреля 2022 г. не стало Бориса Яковлевича Спивакова, члена-корреспондента РАН, крупного ученого в области методов разделения и концентрирования, заместителя председателя научного совета. 26 июля мы потеряли почетного члена совета доктора ф.-м. наук Бориса Владимировича Львова, создателя метода электротермической атомно-абсорбционной спектроскопии.

Научные итоги 2021 г. отражены в отчете научного совета. На основе этого отчета доклад на сессии сделает доктор химических наук О.Б. Рудakov, сообщение о научно-организационной деятельности совета — ученый секретарь совета кандидат химических наук И.Н. Киселева. На сессию вынесен вопрос о наших научных журналах; такое рассмотрение особенно актуально для “Журнала аналитической химии” и журнала “Аналитика и контроль”.

НОВЫЕ КНИГИ ИЗДАТЕЛЬСТВА ELSEVIER

DOI: 10.31857/S0044450223040205, EDN: LAIRGA

1. Smartphones for Chemical Analysis: From Proof-of-concept to Analytical Applications. Eds. Nelis J.L.D., Tsagkaris A. Elsevier, 2023. 312 p.
2. Escobar C.A., Morales-Menendez R. Machine Learning in Manufacturing. Elsevier, 2023. 300 p.
3. Li P., Ji H., Yu H., Wang C. Flexible Distribution Networks. Elsevier, 2023. 316 p.
4. Aptamers for Food Applications. Safety, Quality and Compliance. Ed. Dong Y. Elsevier, 2023. 300 p.
5. Preim B., Raidou R., Smit N., Lawonn K. Visualization, Visual Analytics and Virtual Reality in Medicine. State-of-the-art Techniques and Applications. Elsevier, 2023. 425 p.
6. Artificial Intelligence in Manufacturing. Applications and Case Studies. Eds. Soroush M., Braatz R.D. Elsevier, 2023. 430 p.
7. Afkhami A., Madrakian T., Ahmadi M. Analytical Nanochemistry. Elsevier, 2023. 250 p.
8. Recent Developments in Nanomaterial-Based Sensing of Human Pathogens. Eds. Reddy A., Viswanath B. Elsevier, 2023. 200 p.
9. Astrochemical Modelling. Practical Aspects of Microphysics in Numerical Simulations. Eds. Bovino S., Grassi T. Elsevier, 2023. 370 p.
10. Fabric Phase Sorptive Extraction. Eds. Kabir A., Locatelli M. Elsevier, 2023. 316 p.
11. Electrochemical and Analytical Techniques for Sustainable Corrosion Monitoring. Advances, Challenges and Opportunities. Eds. Aslam J., Verma C., Hussain C.M. Elsevier, 2023. 350 p.
12. Fundamentals of Sensor Technology. Principles and Novel Designs. Eds. Barhoum A., Altintas Z. Elsevier, 2023. 950 p.
13. Cox D., Vladescu J. Statistics for Applied Behavior Analysis Practitioners and Researchers. Elsevier, 2023. 275 p.
14. Elchalakani M., Yang B., Mao K., Pham T. Geopolymer Concrete Structures with Steel and FRP Reinforcements. Analysis and Design. Elsevier, 2023. 500 p.
15. Applied Behavior Analysis Advanced Guidebook. A Manual for Professional Practice. 2nd Ed. Elsevier, 2023. 450 p.
16. Big Data Analytics in Agriculture. Algorithms and Applications. Eds. Srivastava P., Mall R.K., Pradhan B., Pandey M. Elsevier, 2023. 350 p.
17. Miner G., Miner L., Burk S., Goldstein M., Nisbet R., Walton N., Hill T. Practical Data Analytics for Innovation in Medicine. Building Real Predictive and Prescriptive Models in Personalized Healthcare and Medical Research Using AI, ML, and Related Technologies. 2nd Ed. Elsevier, 2023. 576 p.
18. Airborne Microplastics: Analysis, Fate and Human Health Effects. Ed. Jun Wang. Elsevier, 2023. 312 p.
19. Food Quality Analysis. Applications of Analytical Methods Coupled With Artificial Intelligence. Ed. Shukla A.K. Elsevier, 2022. 312 p.
20. Nanomaterials-Based Electrochemical Sensors: Properties, Applications and Recent Advances. Eds. Ahmad A., Verpoort F., Khan A., Sanjay M.R., Shafaqat A. Elsevier, 2022. 600 p.
21. Extraction of Natural Products from Agro-industrial Wastes. A Green and Sustainable Approach. Eds. Bhawani S., Khan A., Ahmad F. Elsevier, 2022. 312 p.
22. The Handbook of Differential Scanning Calorimetry. Techniques, Instrumentation, Inorganic, Organic and Pharmaceutical Substances. Eds. Menczel J., Grebowicz J. Elsevier, 2022. 858 p.
23. Practical Application of Supercritical Fluid Chromatography for Pharmaceutical Research and Development. Eds. Hicks M., Ferguson P. Elsevier, 2022. 436 p.
24. Analytical Nebulizers. Fundamentals and Applications. Eds. Canals A., Aguirre M., Ahmadi M. Elsevier, 2022. 252 p.
25. Quality Analysis of Additively Manufactured Metals. Simulation Approaches, Processes, and Microstructure Properties. Eds. Kadkhodapour J., Schmauder S., Sajadi F. Elsevier, 2022. 852 p.
26. Research Ethics in Behavior Analysis. From Laboratory to Clinic and Classroom. Eds. Cox D., Syed N., Brodhead M., Quigley S. Elsevier, 2022. 288 p.
27. Machine Learning and Pattern Recognition Methods in Chemistry from Multivariate and Data Driven Modeling. Ed. Ghasemi J. Elsevier, 2022. 216 p.
28. van Asten A. Chemical Analysis for Forensic Evidence. Elsevier, 2022. 574 p.
29. Microfluidic Biosensors. Eds. Mak W., Ho A.P. Elsevier, 2022. 368 p.
30. Green Approaches for Chemical Analysis. Ed. Gionfriddo E. Elsevier, 2022. 298 p.

31. Sensing of Deadly Toxic Chemical Warfare Agents, Nerve Agent Simulants, and their Toxicological Aspects. Eds. Das S., Thomas S., Das P.P. Elsevier, 2022. 764 p.
32. Carbon Dots in Analytical Chemistry. Detection and Imaging. Eds. Kailasa S.K., Hussain C.M. Elsevier, 2022. 364 p.
33. Biosensors for Emerging and Re-emerging Infectious Diseases. Eds. Das J., Dave S., Radhakrishnan S., Mohanty P. Elsevier, 2022. 470 p.
34. Infrared Spectroscopy for Environmental Monitoring. Ed. Cozzolino D. Elsevier, 2022. 108 p.
35. Big Data Analytics in Chemoinformatics and Bioinformatics. With Applications to Computer-Aided Drug Design, Cancer Biology, Emerging Pathogens and Computational Toxicology. Eds. Basak S., Vračko M. Elsevier, 2022. 466 p.
36. Application of Sampling and Detection Methods in Agricultural Plant Biotechnology. Eds. Shillito R., Shan G. Elsevier, 2022. 394 p.
37. Particle Separation Techniques. Fundamentals, Instrumentation, and Selected Applications. Ed. Contado C. Elsevier, 2022. 768 p.
38. Sensor Technologies for Civil Infrastructures. V. 1: Sensing Hardware and Data Collection Methods for Performance Assessment. 2nd Ed. Eds. Lynch J., Sohn H., Wang M. Elsevier, 2022. 676 p.
39. Rare-Earth-Activated Phosphors. Chemistry and Applications. Eds. Dubey V., Dubey N., Doman-ska M., Jayasimhadri M., Dhoble S.J. Elsevier, 2022. 434 p.
40. Essentials in Modern HPLC Separations. 2nd Ed. Eds. Moldoveanu S., David V. Elsevier, 2022. 716 p.
41. Nanobioanalytical Approaches to Medical Diagnostics. Eds. Maurya P., Chandra P. Elsevier, 2022. 426 p.
42. Yan B. Rare Earth Metal-Organic Framework Hybrid Materials for Luminescence Responsive Chemical Sensors. Elsevier, 2022. 536 p.
43. Big Data Analytics for Healthcare. Datasets, Techniques, Life Cycles, Management, and Applications. Ed. Keikhosrokiani P. Elsevier, 2022. 354 p.
44. UV-Visible Spectrophotometry of Waters and Soils. 3rd Ed. Eds. Thomas O., Burgess C. Elsevier, 2022. 626 p.
45. Carbon Nanomaterials-Based Sensors. Emerging Research Trends in Devices and Applications. Eds. Manjunatha J., Hussain C.M. Elsevier, 2022. 466 p.
46. Vapor Generation Techniques for Trace Element Analysis. Fundamental Aspects. Eds. D'Ulivo A., Sturgeon R. Elsevier, 2022. 476 p.
47. Wu Y. Analytical Approaches for Reinforced Concrete. Elsevier, 2022. 554 p.
48. Li D. Analysis of Composite Laminates. Theories and Their Applications. Elsevier, 2022. 542 p.
49. Advanced Biosensors for Virus Detection. Smart Diagnostics to Combat SARS-CoV-2. Eds. Khan R., Parihar A., Kaushik A., Kumar A. Elsevier, 2022. 476 p.
50. Wearable Physical, Chemical and Biological Sensors. Fundamentals, Materials and Applications. Eds. Morales-Narvaez E., Dincer C. Elsevier, 2022. 328 p.
51. Sensory Analysis for the Development of Meat Products. Methodological Aspects and Practical Applications. Eds. Rodriguez J., Moure M., Saldana E., Munekata P. Elsevier, 2022. 254 p.

Н.Б. Зоров

*Химический факультет МГУ
им. М.В. Ломоносова*

ПРОФЕССОРУ БОРИСУ БОРИСОВИЧУ ДЗАНТИЕВУ – 75 ЛЕТ

DOI: 10.31857/S0044450223060105, EDN: DWSZUF



1 июня 2023 г. исполняется 75 лет доктору химических наук, профессору, заведующему лабораторией иммунобиохимии Федерального исследовательского центра “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук Борису Борисовичу Дзантиеву.

Б.Б. Дзантиев родился в Москве в семье известного радиохимика Б.Г. Дзантиева. В 1973 г. выпускник Московского химико-технологического института им. Д.И. Менделеева Б.Б. Дзантиев пришел на химический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Он стал одним из первых сотрудников кафедры химической энзимологии, возглавляемой членом-корреспондентом АН СССР И.В. Березиным. Защищенная Б.Б. Дзантиевым в 1979 г. кандидатская диссертация интегрировала подходы химической кинетики, биохимии и иммунохимии при описании общих закономерностей функционирования

иммуноферментных аналитических систем. Став одним из первых отечественных специалистов по этому недавно возникшему направлению аналитической химии, Борис Борисович активно взаимодействовал со специалистами из разных организаций, решавшими задачи иммуноферментного анализа. С 1981 г. и по настоящее время Б.Б. Дзантиев работает в Институте биохимии им. А.Н. Баха (с 2015 г. — Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН), развивая и расширяя иммунохимические исследования. В 1991 г. им защищена докторская диссертация “Физико-химические закономерности иммуноферментного анализа биологически активных соединений”. В том же году вышла книга “Теория и практика иммуноферментного анализа”, одним из авторов которой он являлся. С 1988 г. Б.Б. Дзантиев заведует лабораторией иммунобиохимии, в 2004–2018 гг. работал заместителем директора института по научной работе.

Юбиляр — специалист в области изучения иммунохимических взаимодействий и применения установленных закономерностей в биоаналитических системах, он автор 440 статей, 50 авторских свидетельств и патентов. Под его руководством подготовлено 17 диссертаций, выполнен ряд фундаментальных и прикладных проектов, совместных исследований с партнерами, география которых простирается от Канады до Филиппин, от Швеции до ЮАР.

Б.Б. Дзантиевым изучены физико-химические основы и разработаны математические модели взаимодействий в иммуноаналитических системах. Им предложены новые подходы к высокочувствительному выявлению соединений разных классов, значимых для медицинской диагностики, ветеринарии, контроля состояния окружающей среды, качества и безопасности продуктов питания. Им и его учениками разработаны тест-системы для экспрессного обнаружения антибиотиков, пестицидов, микотоксинов, белковых биомаркеров заболеваний, патогенных микроорганизмов и вирусов и ряда других аналитов, внедрены в практику технологические решения для производства иммунохроматографических тест-систем.

Борис Борисович удостоен премии Правительства Российской Федерации 2010 г. в области науки и техники, диплома Федеральной службы

по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам “100 лучших изобретений России” (2011 г.), премии издательства “МАИК-Наука” за лучшие публикации в журналах РАН (2012 г.), премии Научного совета РАН по аналитической химии (2019 г.). Б.Б. Дзантиев — руководитель комиссии по биохимическим и биологическим методам анализа Научного совета РАН по аналитической химии, член Экспертного совета Российского научного фонда, двух диссертационных советов, редколлегий журналов “Прикладная биохимия и микробиология” и “Biosensors”.

Нынешний юбилей — это еще и 50 лет трудовой биографии Б.Б. Дзантиева в отечественной науке. Его путь к сегодняшнему дню — это и необходимость организовывать с нуля работу по новому научному направлению в 1980-е годы, и сложности выживания научного подразделения в 1990-е годы, и формирование цепочки от научной идеи к ее технологической реализации в 2000-е годы, и организационные сложности развития академической науки в 2010-е годы. Достигнутые Б.Б. Дзантиевым результаты — несомненное

следствие интеграции его научных и человеческих качеств: высокого профессионализма, глубокого понимания фундаментальных закономерностей и их творческого применения при решении прикладных задач, широкого кругозора, завидного трудолюбия, интеллигентности и исключительной доброжелательности к ученикам и коллегам. Эти качества снискали заслуженную любовь и уважение окружающих Б.Б. Дзантиева людей.

За 50 лет радикально изменился научный инструментарий — и средства проведения экспериментов, и высокопроизводительное оборудование, и процессы обработки данных, и возможности работы с информационными ресурсами. Пример Б.Б. Дзантиева убедительно показывает, как можно эффективно работать в этом меняющемся мире, осваивая и применяя новые современные подходы. Друзья и коллеги, поздравляя Бориса Борисовича Дзантиева с юбилеем, желают ему крепкого здоровья и дальнейших научных успехов.