

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

ШИШОВ АНДРЕЙ ЮРЬЕВИЧ

Эвтектические растворители в методах жидкостной микроэкстракции

1.4.2 – Аналитическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени доктора химических наук

Научный консультант:

д.х.н., профессор РАН

А.В. Булатов

Санкт-Петербург – 2024

СОДЕРЖАНИЕ

Список условных сокращений и обозначений.....	4
Введение.....	6
Глава 1. Обзор литературы.....	18
1.1. Эвтектические растворители: классификация и свойства	18
1.2. Применение эвтектических растворителей в аналитической химии.....	43
1.3 Дисперсионная жидкостная микроэкстракция.....	66
1.4. Автоматизация химического анализа на принципах проточных методов.....	78
1.5 Выводы по обзору литературы.....	86
Глава 2. Экспериментальная часть.....	87
Глава 3. Устойчивость эвтектических растворителей при контакте с водной фазой.....	98
Глава 4. Дисперсионная жидкостная микроэкстракция с применением эвтектических растворителей	128
Глава 5. Жидкостная микроэкстракция с <i>in situ</i> образованием эвтектических растворителей	170
Глава 6. Реакционная микроэкстракция с применением эвтектических растворителей	234
Глава 7. Автоматизация реакционной жидкостной микроэкстракции на принципах проточных методов с применением эвтектических растворителей	280

Глава 8. Общие рекомендации по выбору прекурсоров для изготовления эвтектических растворителей	303
Результаты.....	305
Список литературы.....	307

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

ААС-ЭТ – Атомно-абсорбционная спектрометрия с электротермической атомизацией

AuNP – Золотые наночастицы

ДЖМЭ – Дисперсионная жидкостная микроэкстракция

ВС – Водородная связь

ГСО – Государственный стандартный образец

ГХ-МС – Газовая хроматография-масс-спектрометрия

ГХ-ПИД – Газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектором

ГХ-ПФД – Газовая хроматография с пламенно-фотометрическим детектором

ДВС – Донор водородной связи

ДСК – Дифференциальная сканирующая калориметрия

ДОК – Диапазон определяемых концентраций

ЖМЭ – Жидкостная микроэкстракция

ИК – Инфракрасная спектроскопия

ИСП-МС – Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой

ИСП-ОЭС – Оптико-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной Плазмой

ИВА – Инверсионная вольтамперометрия

ЛВШ – Лаборатория в шприце

ЛОС – Летучие органические соединения

МИП – Полимеры с молекулярными отпечатками

МС – Масс-спектрометрия

НПВВ – Нестероидные противовоспалительные вещества

ОСКО – Относительное среднеквадратическое отклонение

ПАВ – Поверхностно-активные вещества

ПАУ – Полициклические ароматические углеводороды

ПО – Предел обнаружения

СКО – Среднеквадратическое отклонение

СОП – Стандартный образец предприятия

СФ – Спектрофотометрия

СЭМ – Сканирующий электронный микроскоп

ТГА – Термогравиметрический анализ

ТФМЭ – Твердофазная микроэкстракция

УФ – Ультрафиолет

ВЭЖХ-ФЛД – Высокоэффективная жидкостная хроматография с флуориметрическим детектированием

ВЭЖХ-МС – Высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием

ВЭЖХ-МС-МС – Высокоэффективная жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией

ВЭЖХ-УФ – Высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовым детектированием

ЭР – Эвтектический растворитель

ЭТААС – Электротермическая атомно-абсорбционная спектрометрия

Введение

Актуальность темы исследований

Методы жидкостной микроэкстракции (ЖМЭ) находят широкое применение в химическом анализе различных объектов. Эти методы позволяют эффективно извлекать и концентрировать аналиты из сложных матриц, сводя к минимуму расход экстрагентов, сокращая общее время анализа и его стоимость. При этом микроэкстракционные методы как правило предполагают применение летучих и токсичных органических растворителей в качестве экстрагентов. С одной стороны, высокая летучесть таких экстрагентов, может вызывать неконтролируемое изменение соотношения фаз при выполнении ЖМЭ и, как следствие, оказывать негативное влияние на прецизионность измерений. С другой стороны, при массовом анализе появляется необходимость в утилизации больших объемов токсичных отходов. Поэтому в области развития методов разделения и концентрирования особое внимание уделяют поиску и изучению новых эффективных экологически безопасных растворителей. К числу растворителей последнего поколения относят эвтектические растворители (ЭР), которые обладают низкой летучестью и зачастую являются биоразлагаемыми.

ЭР состоят из двух или более веществ, способных образовывать между собой водородные связи, формирование которых приводит к существенному снижению температуры плавления подобных смесей по отношению к исходным компонентам. В химическом анализе преимущественно находят применение ЭР, находящиеся в жидком агрегатном состоянии при комнатной температуре и атмосферном давлении. ЭР открывают новые возможности для ЖМЭ выделения и концентрирования различных веществ. Необходимые экстракционные свойства ЭР можно обеспечивать, подбирая подходящие компоненты на стадии приготовления растворителей.

Возможности применения ЭР в качестве эффективных экстрагентов представлены в многочисленных работах. Однако в первых работах не уделялось внимание изучению устойчивости ЭР при контакте с водной фазой,

что привело к многочисленным ошибкам в литературе, связанным с неправильным объяснением механизмов экстракции. Поэтому актуальной задачей являлось изучение устойчивости различных ЭР при контакте с водной фазой и установление ее роли в процессе массопереноса целевых аналитов. В свою очередь, способы, основанные на *in situ* образовании и разрушении ЭР в процессе пробоподготовки, открывают новые возможности для повышения экспрессности анализа, сокращения расхода прекурсоров (для образования ЭР) и увеличения степени извлечения целевых аналитов. Кроме того, компоненты ЭР могут выступать как реагенты для комплексообразования ионов металлов и дериватизации полярных аналитов для последующего их массопереноса в фазу ЭР. Такие подходы не были реализованы.

Существенно сократить трудозатраты на выполнение рутинных процедур ЖМЭ можно путем их автоматизации на принципах проточных методов. Проточные методы остаются универсальным решением для автоматизации основных стадий химического анализа. Следует отметить, что автоматизация микроэкстракционных методов с применением ЭР до наших исследований оставалась нерешенной задачей.

Актуальность выполненных исследований подтверждается присуждением Научным советом РАН по аналитической химии премии 2022 г. для молодых ученых, медалью РАН для молодых ученых в 2019 г., премией Президента Российской Федерации в области науки и инноваций в 2022 г., молодежной премии Правительства Санкт-Петербурга в 2022 г., а также поддержкой исследований в этом направлении со стороны Фонда президентских грантов и Российского научного фонда.

Степень разработанности темы исследования

ЭР были впервые представлены в работе А. Abbot и др. [J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, 29, 9142–9147], в которой авторы продемонстрировали явление существенного снижения температур плавления смесей на основе холина хлорида и карбоновых кислот по отношению к исходным компонентам. В дальнейшем ЭР нашли широкое применение в качестве растворителей в

методах разделения и концентрирования. В большинстве работ в этой области авторами уделялось внимание изучению экстракционных свойств ЭР для выделения целевых аналитов из конкретных объектов анализа. При этом авторы первых работ не обращали должного внимания на стабильность ЭР при контакте с водной фазой. Это привело к неправильному пониманию некоторых механизмов экстракции в ЭР. При выполнении данного исследования был впервые установлен феномен разрушения ЭР на основе четвертичных аммониевых соединений при контакте с водной фазой. Детально была изучена стабильность разных классов ЭР при контакте с водой. На основании полученных результатов была предложена классификация ЭР по критерию их стабильности при контакте с водной фазой, в соответствии с которой все ЭР можно разделить на гидрофильные (1), гидрофобные (2) и квазигидрофобные (3).

Одним из эффективных методов разделения и концентрирования является дисперсионная жидкостная микроэкстракция (ДЖМЭ). В классической ДЖМЭ смесь неполярного экстрагента и полярного растворителя-диспергатора вводят в анализируемый раствор, в результате чего фаза экстрагента равномерно распределяется в нем в виде тонкодисперсной эмульсии, обеспечивая высокую скорость массопереноса выделяемых веществ. Ограничением метода является необходимость применения растворителей-диспергаторов. Как правило, они представляют собой полярные растворители, в присутствии которых увеличивается растворимость целевых аналитов в водной фазе и, как следствие, снижаются их коэффициенты распределения. Для устранения влияния растворителей-диспергаторов в ДЖМЭ в наших исследованиях показана возможность реализации метода на принципах разрушения ЭР при контакте с водной/органической фазой, а также на принципах диспергирования экстрагента в присутствии ЭР.

Как правило, ЭР являются вязкими жидкостями при комнатной температуре и атмосферном давлении, что затрудняет отбор их фаз при

выполнении процедур ДЖМЭ и негативно влияет на кинетику массопереноса. Для снижения вязкости ЭР в литературе предложено разбавлять их водой, или другими растворителями. Однако влияние разбавителя на устойчивость ЭР в литературе не рассматривалось. В данной работе изучили возможность применения воды как прекурсора для образования трехкомпонентных ЭР, а также показали преимущества данных ЭР перед двухкомпонентными при извлечении металлов. На основании полученных результатов разработали общие рекомендации для приготовления трёхкомпонентных ЭР на основе холина хлорида и карбоновых кислот, показали их экстракционные возможности.

В большинстве работ ЭР готовят непосредственно перед проведением ДЖМЭ путем смешения и нагревания исходных прекурсоров. С целью снижения времени, трудозатрат и расхода энергии в данной работе разработан комплекс подходов, основанных на *in situ* образования ЭР в процессе ДЖМЭ. При этом показано, что и матричные компоненты и непосредственно аналиты могут выступать в качестве компонентов для образования ЭР как в растворе пробы, так и на инертных мембранах. Такие подходы позволяют дополнительно увеличить селективность ЖМЭ, повысить экспрессность анализа и снизить расход экстрагентов.

ЭР могут выступать не только в качестве экстрагентов, но и как среда для дериватизации полярных аналитов для последующей ЖМЭ их производных. При этом могут быть реализованы два подхода. Первый подход, представленный в литературе, предполагает растворение реагента для дериватизации в ЭР. Второй подход, впервые предложенный в данном исследовании, основан на непосредственном участии компонентов ЭР в качестве реагентов. Второй подход, бесспорно, упрощает процедуру пробоподготовки.

Автоматизация пробоподготовки остается актуальной задачей в современной аналитической химии. Автоматизация позволяет объединить в одной системе все этапы пробоподготовки, повысить прецизионность анализа,

сократить время анализа и расход реагентов. Проточные методы являются универсальным инструментом для автоматизации и миниатюризации пробоподготовки. В России проточные методы активно развиваются на кафедрах аналитической химии МГУ, СПбГУ и КФУ. До начала данного исследования в литературе не было представлено ни одной работы в области автоматизации ЖМЭ на принципах проточных методов с использованием ЭР. Высокая вязкость ЭР существенно ограничивает их применение в качестве экстрагентов в автоматизированных процедурах ЖМЭ на принципах проточных методов. Пионерские работы в этом направлении сделаны авторами данного исследования. При выполнении этих исследований основной акцент был сделан на поиск решений для снижения вязкости ЭР, и увеличений скорости массопереноса целевых аналитов.

В многочисленных работах показана высокая эффективность различных классов ЭР при выделении и концентрировании органических и неорганических аналитов из разных матриц. Однако нерешенной задачей оставалось установление общих закономерностей для обоснованного выбора подходящих ЭР в зависимости от природы выделяемых веществ (1), матричных компонентов объектов анализа (2), и применяемых методов анализа экстрактов (3).

Автором данной диссертационной работы проведен анализ современного состояния исследований в области микроэкстракционных методов с применением ЭР, который нашел отражение в двух обзорных статьях, в которых впервые были затронуты вопросы устойчивости ЭР при контакте с водной фазой и возможности использования явлений их разрушения/образования для реализации новых подходов к микроэкстракционному выделению и концентрированию веществ из объектов со сложной матрицей.

Цель исследования – разработка системного подхода к микроэкстракционному выделению, концен-трированию и определению полярных и неполярных веществ в объектах со сложной матрицей с

применением ЭР, обосновывающий выбор компонентов ЭР для решения конкретных аналитических задач.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- изучить устойчивость ЭР на основе карбоновых кислот, четвертичных аммониевых соединений, терпеноидов и фенола при контакте с водной фазой;
- предложить классификацию ЭР по признаку их стабильности при контакте с водной фазой, позволяющую обосновать выбор экстрагентов;
- для исключения органических растворителей-диспергаторов в ДЖМЭ обосновать возможность реализации метода на принципах разрушения гидрофобных и квазигидрофобных ЭР при контакте с водной/органической фазами;
- изучить возможность повышения эффективности массопереноса в фазу гидрофильных и гидрофобных ЭР за счет;
- изучить возможность *in situ* образования ЭР в растворах и на мембранах для повышения экспрессности ЖМЭ;
- разработать гидравлическую схему для автоматизации ЖМЭ в ЭР;
- подтвердить аналитические возможности разработанных способов на примерах количественного анализа реальных объектов (пищевые продукты, биологические жидкости, фармацевтические препараты) хроматографическими, спектральными и электрохимическими методами.

Научная новизна работы

Установлены основные закономерности устойчивости ЭР на основе четвертичных аммониевых солей, фенола, одноосновных и многоосновных карбоновых кислот, а также терпеноидов при контакте с водной фазой. На основании полученных результатов предложена классификация ЭР по признаку их стабильности при контакте с водной фазой; все растворители можно разделить на гидрофильные (1), гидрофобные (2) и квазигидрофобные (3). Реализован метод ДЖМЭ, предполагающий применение гидрофильных ЭР на основе карбоновых кислот и четвертичных аммониевых соединений в

качестве растворителей-диспергаторов. Показано, что такие растворители обеспечивают эффективное диспергирование экстрагентов (длинноцепочечные спирты и карбоновые кислоты) в водной фазе и повышение степеней извлечения аналитов за счет отказа от использования полярного диспергатора. Разработаны способы ДЖМЭ, основанные на разрушении квазигидрофобных ЭР при контакте с фазой пробы (водная или органическая) без применения растворителей-диспергаторов. Для ДЖМЭ из водных растворов предложены квазигидрофобные ЭР на основе карбоновых кислот/спиртов и четвертичных аммониевых соединений. Установлено, что четвертичные аммониевые соединения в составе ЭР инициируют диспергирование органической фазы, обеспечивая увеличение скорости массопереноса целевых аналитов и степеней их извлечения. В свою очередь, для ДЖМЭ из органических проб предложены трехкомпонентные квазигидрофобные ЭР на основе терпеноидов, карбоновых кислот и воды. Для ЖМЭ полярных и неполярных аналитов разработаны подходы, основанные на *in situ* образовании ЭР в результате взаимодействия аналитов или матричных компонентов пробы (жирных кислот) с природными терпеноидами и хлоридом холина в растворе и на импрегнированных мембранах. Разработанные подходы позволяют сократить время пробоподготовки и количество реагентов для образования ЭР. Показана и обоснована возможность выполнения реакций комплексообразования водорастворимых аналитов с компонентами ЭР для более эффективного извлечения образующихся продуктов. Реакционная ЖМЭ в ЭР открывает новые возможности для селективного выделения и концентрирования полярных аналитов. Комплексно исследовано изменение физико-химических свойств ЭР на основе холина хлорида и карбоновых кислот при введении в них воды. Как следствие предложены трёхкомпонентные ЭР, обладающие низкой вязкостью. Такие растворители нашли применение для автоматизации ЖМЭ на принципах проточных методов. Разработаны автоматизированные способы

ЖМЭ в ЭР из водных и органических проб, обеспечившие повышение производительности и прецизионности анализа.

Теоретическая и практическая значимость работы

Для ЖМЭ полярных и неполярных аналитов из различных объектов анализа предложены экстракционные системы – ЭР на основе холина хлорида, карбоновых кислот, спиртов, мочевины и ее производных, сахаров, терпеноидов, и четвертичных аммониевых соединений. Установлены основные закономерности устойчивости ЭР на основе четвертичных аммониевых солей, фенола, одноосновных и многоосновных карбоновых кислот, а также терпеноидов при контакте с водной фазой, которые позволяют обосновать выбор прекурсоров для приготовления ЭР. Для повышения эффективности ДЖМЭ полярных и неполярных аналитов реализованы методы, основанные на разрушении квазигидрофобных ЭР при контакте с водной/органической фазой. Доказана возможность *in situ* образования ЭР в результате взаимодействия аналитов и матричных компонентов пробы (жирных кислот) с природными терпеноидами и хлоридом холина в растворах и на импрегнированных мембранах. Доказана возможность повышения эффективности и селективности массопереноса полярных аналитов в фазу гидрофильных и гидрофобных ЭР за счет реакций комплексообразования с компонентами ЭР. Разработана гидравлическая схема для автоматизации реакционной ЖМЭ с применением гидрофильных ЭР. Изучено влияние воды в составе трехкомпонентных гидрофильных ЭР на основе холина хлорида и карбоновых кислот на их устойчивость для получения низковязких экстрагентов, которые нашли применение для автоматизации ЖМЭ из органических жидкостей. Показана возможность комбинации разработанных способов ЖМЭ с такими методами анализа, как высокоэффективная жидкостная хроматография с фотометрическим (ВЭЖХ-УФ), флуориметрическим (ВЭЖХ-ФЛ) и масс-спектрометрическим (ВЭЖХ-МС) детектированием, спектрофотометрия (СФ), атомно-абсорбционная спектрометрия (ААС), атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно

связанной плазмой (АЭС-ИСП), инверсионная вольтамперометрия (ИВА). Разработан комплекс экспрессных способов высокочувствительного и селективного определения таких аналитов, как гормоны, антибиотики, нестероидные противовоспалительные средства, полифенольные соединения, бисфенолы, фенол и его производные, мышьяк, металлы в различных объектах (пищевые продукты, биологические объекты, лекарственные препараты). Значимость работы подтверждена показателями цитирования основных публикаций по теме исследования. Согласно данным базы «Scopus», индекс Хирша автора – 26. Общее число цитирований по заявленным работам – более 1000. Полученные результаты представлены в патенте на изобретение (№ 2774814).

Методология и методы исследования

В исследовании использовали методы ВЭЖХ-УФ, ВЭЖХ-ФЛ, ВЭЖХ-МС, СФ, ААС, АЭС-ИСП, ИВА, проточный анализ с фотометрическим детектированием. Для статистической обработки результатов были использованы современные программные средства «Excel» и «Origin». Для информационного поиска использовали анализ литературных данных и поисковую систему для научного библиографического поиска «Scopus».

Градуировочные зависимости для определения аналитов получали путем анализа не менее 6 растворов с известной концентрацией и обработки полученных данных по методу наименьших квадратов. Предел обнаружения (ПО) рассчитывали, как утроенное стандартное отклонение фонового сигнала (3σ), выраженное в единицах концентрации на основании уравнения градуировочной зависимости. Прецизионность оценивали с помощью относительного стандартного отклонения (ОСКО, %) результатов измерений в соответствующих условиях.

Аналитические возможности разработанных способов ЖМЭ были подтверждены на примерах подготовки проб реальных объектов. Анализировали такие объекты, как моча, тонизирующие напитки, соки, сухое и цельное молоко, ткани животных, растительные масла, лекарственные

препараты. Правильность полученных результатов подтверждали методом «введено-найдено» и анализом стандартных образцов. Для оценки правильности получаемых результатов оценивали относительное смещение. Кроме того, проводили анализ проб независимым способом.

Положения, выносимые на защиту

1. Результаты исследования стабильности ЭР на основе четверичных аммониевых солей, фенола, одноосновных и многоосновных карбоновых кислот, а также терпеноидов при контакте с водной фазой, позволяющие обосновать возможность их применения в ЖМЭ в качестве экстрагентов и растворителей-диспергаторов.
2. Классификация ЭР по признаку их стабильности при контакте с водной фазой (гидрофильные, квазигидрофобные и гидрофобные ЭР).
3. Новые способы микроэкстракционного концентрирования, основанные на разрушении гидрофильных и квазигидрофобных ЭР при контакте с водной/органической фазой, а также на принципах диспергирования экстрагента в присутствии гидрофильных ЭР, обеспечивающие возможность повышения эффективности массопереноса полярных и неполярных аналитов.
4. Новые способы реализации ЖМЭ, основанной на *in situ* образовании ЭР в растворах и на мембранах с участием матричных компонентов проб и аналитов, позволяющие увеличить селективность массопереноса, снизить расход реагентов, увеличить производительность анализа.
5. Обоснование возможности применения химических реакций (комплексобразования) с компонентами ЭР для селективной ЖМЭ полярных аналитов. Развитие подходов к автоматизации реакционной ЖМЭ с применением ЭР.
6. Результаты испытаний разработанных способов ЖМЭ при определении различных аналитов в объектах со сложной матрицей (пищевые продукты, биологические объекты, лекарственные препараты)

методами хроматографического, спектрального и электрохимического анализа, демонстрирующие перспективность использования ЭР в химическом анализе.

Степень достоверности и апробация результатов

Диссертационная работа выполнена на современном научно-методическом уровне в объеме, достаточном для приведенных в работе обобщений и обоснования выводов. Достоверность полученных результатов обеспечена использованием современных и независимых методов анализа (ВЭЖХ-УФ, ВЭЖХ-МС, ВЭЖХ-ФЛ, СФ, ААС, АЭС-ИСП, ИВА, проточные методы), а также математической статистики при обработке экспериментальных данных. Экспериментальные данные, полученные автором, достоверны. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, аргументированы, достоверны и логически вытекают из полученных автором экспериментальных данных и их анализа, а также сопоставления с литературными данными. Первичная документация исследования проверена и полностью соответствует материалам, содержащимся в работе. В диссертации использован и проанализирован достаточный объем литературных данных о работах отечественных и иностранных авторов, имеющих отношение к теме исследования.

Результаты работы и основные положения диссертации были доложены и обсуждены на X международной конференции среди молодых ученых по химии «Mendeleev 2017» (Санкт-Петербург, 2017), Третьем съезде аналитиков России (Москва, 2017), XXI International Conference on Flow Injection Analysis and Related Techniques (Санкт-Петербург, 2017), Flow Analysis XIV (Бангкок, Таиланд, 2018), Euroanalysis 2019 (Стамбул, Турция, 2019), 4 International Conference on Ionic Liquids in Separation and Purification Technology (Сиджес, Испания, 2019), VI Всероссийском симпозиуме «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (Краснодар, 2021), V International Caparica Christmas Conference on Sample Treatment (Капарика,

Португалия, 2021), конференции «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2022), Четвертом съезде аналитиков России (Москва, 2022), конференции «Актуальные вопросы химической технологии и защиты окружающей среды» (Чебоксары, 2022), конференции «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2023), XVI Asian Conference on Analytical Sciences (Куала-Лумпур, Малайзия, 2023).

Внедрение в практику

Результаты внедрения подтверждены патентом и актами внедрения от компании ООО «Петроаналитика» и Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности – аналитическая химия. Результаты проведенного исследования соответствуют области специальности, конкретно п.п. 8, 10, 12, 13 паспорта специальности «Аналитическая химия».

Личный вклад автора

Автором самостоятельно осуществлен выбор научного направления. Во всех работах автору принадлежит ведущая роль в постановке цели и задач, выборе объектов исследования, планировании и проведении экспериментов, интерпретации и обобщении данных. Во всех основных публикаций по теме диссертации автор ответственен за корреспонденцию, связанную с этими статьями.

Публикации

По материалам работы с 2017 г опубликована 21 статья в журналах, рекомендованных ВАК для размещения материалов диссертаций. 20 статей опубликовано в журналах первого квартиля.

Работа выполнена при поддержке грантов РНФ (№18-73-00111, № 20-73-00043, № 22-73-10039, № 21-13-00020, № 24-43-02023, № 24-13-00118) и грантов Президента Российской Федерации (МК-806.2022.1.3 и МК- 1154.2020.3).

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эвтектические растворители: классификация и свойства

Термин эвтектические растворители (ЭР) были представлены в научной литературе 2004 году [1]. Данные растворители представляют собой смеси двух или более веществ, образованы компонентами, которые можно условно разделить на доноров, и акцепторов водородной связи (ВС). Образование межмолекулярных водородных связей между компонентами ЭР приводит к значительному снижению температуры плавления ЭР по сравнению с температурами плавления исходных компонентов. В настоящее время ЭР рассматриваются как новый класс "зеленых" растворителей и иногда позиционируются как подкласс ионных жидкостей. Первое опубликованное научное исследование в данной области принадлежит Abbot и коллегам, которые отметили аномально сильное снижение температуры плавления смеси соединений, впоследствии разделенных ими на доноров и акцепторов водородной связи. Это поведение наблюдалось для смеси хлорида холина (2-гидроксиэтилтриметиламмония хлорид) (температура плавления, $T_{пл} \approx 302$ °C) с мочевиной ($T_{пл} \approx 133$ °C) в мольном соотношении 1:2 [2]. Температура плавления такой смеси составила 12 °C. Abbot и коллеги назвали полученную жидкость "глубокой" эвтектической смесью. Поскольку подобные смеси в дальнейшем нашли широкое применение в качестве растворителей, впоследствии получил распространение термин "глубокие эвтектические растворители" как универсальный термин для этого класса смесей [1].

ЭР часто относят к подклассу ионных жидкостей, поскольку они имеют многие общие характеристики, такие как высокая термическая стабильность, низкая летучесть, низкое давление насыщенных паров и настраиваемая полярность, что делает ЭР потенциальными кандидатами на более экологичную замену летучих, токсичных, горючих органических растворителей, широко используемых в исследованиях и промышленности. Однако в последних работах многие авторы стремятся разделять ионные жидкости и эвтектические растворители в две отдельные, независимые

категории растворителей [3]. Это связано с тем, что компоненты ЭР обычно недороги, биоразлагаемы, нетоксичны, а сами эвтектические растворители легче изготовить, чем ионные жидкости.

С точки зрения химического строения ЭР обычно содержат большие несимметричные ионы с низкой энергией кристаллической решетки и, следовательно, с низкими температурами плавления. Их часто получают путем комплексообразования соли четвертичного аммонийного соединения с солью металла или донором водородной связи. Делокализация заряда, происходящая за счет новых межмолекулярных водородных связей между, например, ионом галогенида и донором водорода, отвечает за снижение температуры плавления смеси по сравнению с температурами плавления исходных компонентов. По внешнему виду ЭР чаще всего представляют собой вязкие, прозрачные жидкости с оттенками от белого до янтарного цвета.

Первое поколение ЭР представляло собой смеси ионных водорастворимых соединений, которые впоследствии были названы гидрофильными эвтектическими растворителями [4]. Одним из самых распространённых акцепторов водородной связи в подобных соединениях является хлорид холина [5] [6], который активно применяется как пищевая добавка и производится в крупнотоннажных масштабах, что делает его дешевым, доступным, нетоксичным и экологически безопасным компонентом. Такие вещества, как мочевины [7] [8], глицерин [9] [10], фруктовые кислоты [11] [12]) и сахара [13] [14] [15] являются одними из наиболее распространённых доноров водородных связей, используемых при изготовлении ЭР. Также предложен ряд ЭР, включающих в свой состав соли металлов, чаще всего переходных [16] [17] [18].

На Рисунке 1 приведены некоторые наиболее часто используемые доноры и акцепторы водородной связи, применяемые в изготовлении эвтектических растворителей.

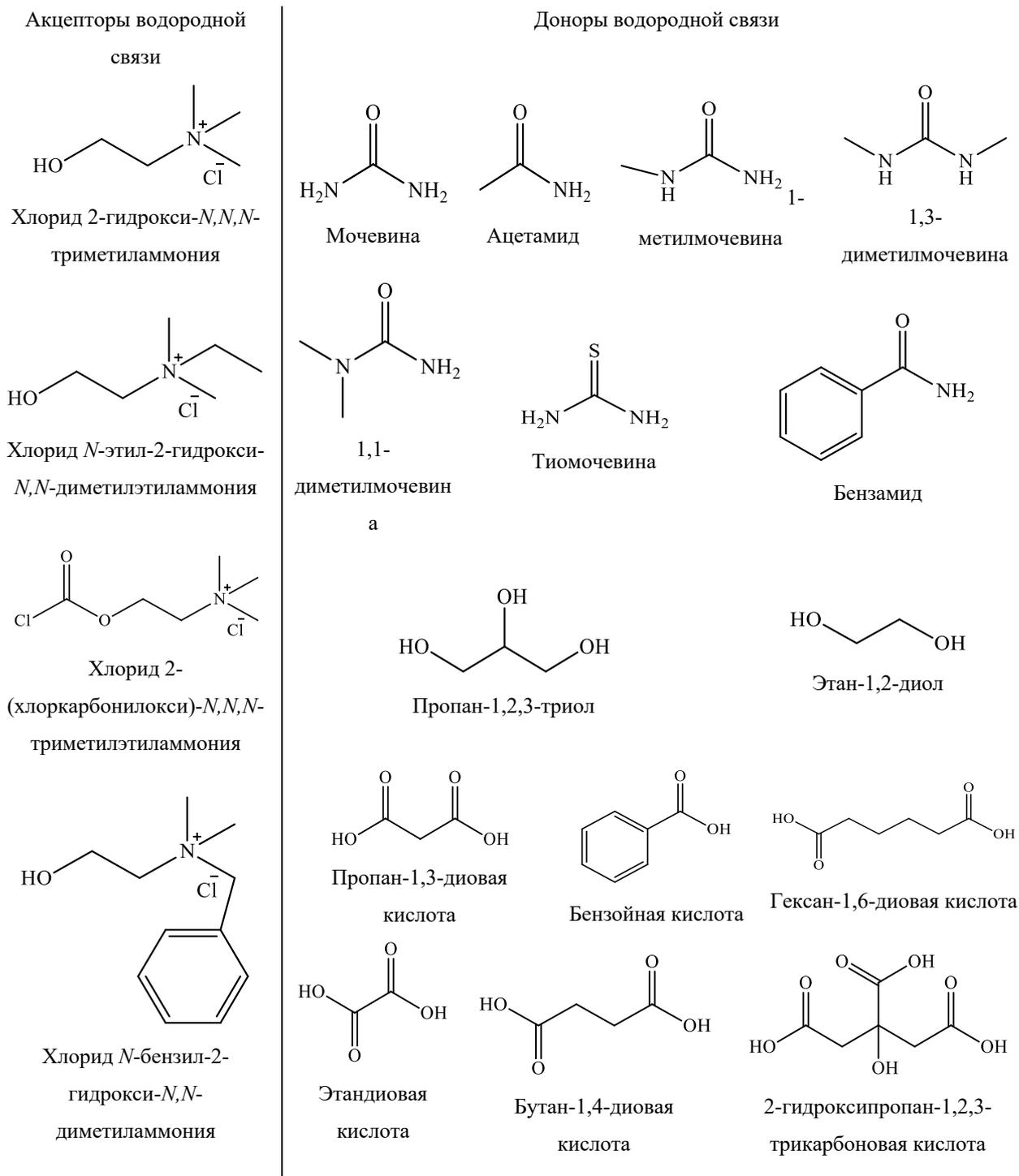


Рисунок 1 – Доноры и акцепторы водородной связи, используемые в изготовлении эвтектических растворителей

В настоящее время предложена общая формула для описания состава эвтектических растворителей: Cat^+X^-zY (1), где Cat^+ представляет собой катион аммония, фосфония или сульфония, а X^- представляет собой основание Льюиса, обычно галогенид-анион. Сложные анионные частицы образуются

между X^- и кислотой Льюиса или Бренстеда Y (z относится к количеству молекул Y , которые взаимодействуют с анионом). Большинство исследований, опубликованных к настоящему времени, было сосредоточено на катионах четвертичного аммония и имидазолия, причем особое внимание уделялось более практичным и доступным системам с использованием хлорида холина. В таблице 1 приведена классификация ЭР, основанная на природе используемых соединений, получившая наибольшее распространение (Таблица 1).

Таблица 1 – Классификации ЭР, основанная на природе прекурсоров [3]

Тип ЭР	Формула	Примеры
1	$Cat^+X^-zMCl_x$	$M = Zn, Sn, Fe, Al, Ga, In$
2	$Cat^+X^-zMCl_{x*y}H_2O$	$M = Cr, Co, Cu, Ni, Fe$
3	Cat^+X^-zRZ	$Z = CONH_2, COOH, OH$
4	$MCl_x + RZ$	$M = Zn, Al,$ $Z = CONH_2, OH$
5	$RZ + R'Z$	$Z = COOH, OH$

Первое поколение эвтектических растворителей было изготовлено преимущественно из водорастворимых соединений, что ограничивало их использование в качестве экстрагентов при анализе водных проб. Поэтому основное применение они получили при анализе твердофазных проб, таких как пищевые продукты и растительное сырье. Например, были изготовлены ЭР, в которых холин хлорид использовался в качестве акцептора водородной связи, а DL-Яблочная, и лимонная кислоты, глицерин, D-(+)-глюкоза, D-(-)-фруктоза, D-(+)-галактоза D-(-)-рибоза, сахароза, D-(+)-мальтоза и мальтит применялся в качестве доноров водородной связи. Данные ЭР были использованы для эффективного извлечения антиоксидантов из виноградной кожуры [19], а ЭР на основе холина хлорида, глицерина и мочевины

применялись для извлечения микотоксина (охратоксин А) из мучных продуктов [20].

Также данные ЭР нашли применение для анализа неполярных жидкостей, например пищевых масел. Так, были предложены ЭР на основе холина хлорида, мочевины, щавелевой кислоты и этиленгликоля для извлечения свинца и кадмия [21] из растительного масла, а также ЭР на основе холина хлорида и этиленгликоля, глицерина, 1,2-бутандиола, 1,4-бутандиола, 1,6-гександиола, мочевины и уксусной кислоты для извлечения полифенольных соединений из пищевых масел [22]. Несмотря на нестабильность данных ЭР при контакте с водной фазой, их преимуществом является возможность их дальнейшего растворения в воде с последующим анализом полученного водного раствора, что во многом позволило использовать в качестве методов анализа практически весь инструментарий аналитической химии. Такие методы, как ВЭЖХ-УФ [23], ВЭЖХ-МС [24], ГХ-МС [25], ИСП-ОЭС [26], молекулярная спектроскопия [27], ААС-ЭТ [28] активно используются для последующего анализа полученных экстрактов.

В связи необходимостью получения неполярных экстрагентов на основе ЭР, устойчивых при контакте с водной фазой, многие исследователи начали искать стабильные при контакте с водой эвтектические растворители. Этот класс растворителей впоследствии был назван гидрофобными эвтектическими растворителями. Первая работа в данной области была опубликована в 2015 году [29]. В этой работе авторами впервые была продемонстрирована возможность использования эвтектических растворителей в качестве гидрофобных экстрагентов для извлечения уксусной, пропионовой и масляной кислот из разбавленных водных растворов. Авторы представили новые ЭР, состоящие из декановой кислоты и различных четвертичных аммонийных соединений (тетрабутиламмоний хлорид, метилтриоктиламмоний хлорид, тетрагептиламмоний хлорид, тетраоктиламмоний хлорид, тетраоктиламмоний бромид, метилтриоктиламмоний бромид) (Рисунок 2), и исследовали их экстракционные возможности в сравнении с традиционным экстрагентом –

триоктиламином. Результаты показали, что гидрофобные ЭР обладают более высокой эффективностью извлечения уксусной, пропионовой и масляной кислот по сравнению с триоктиламином.

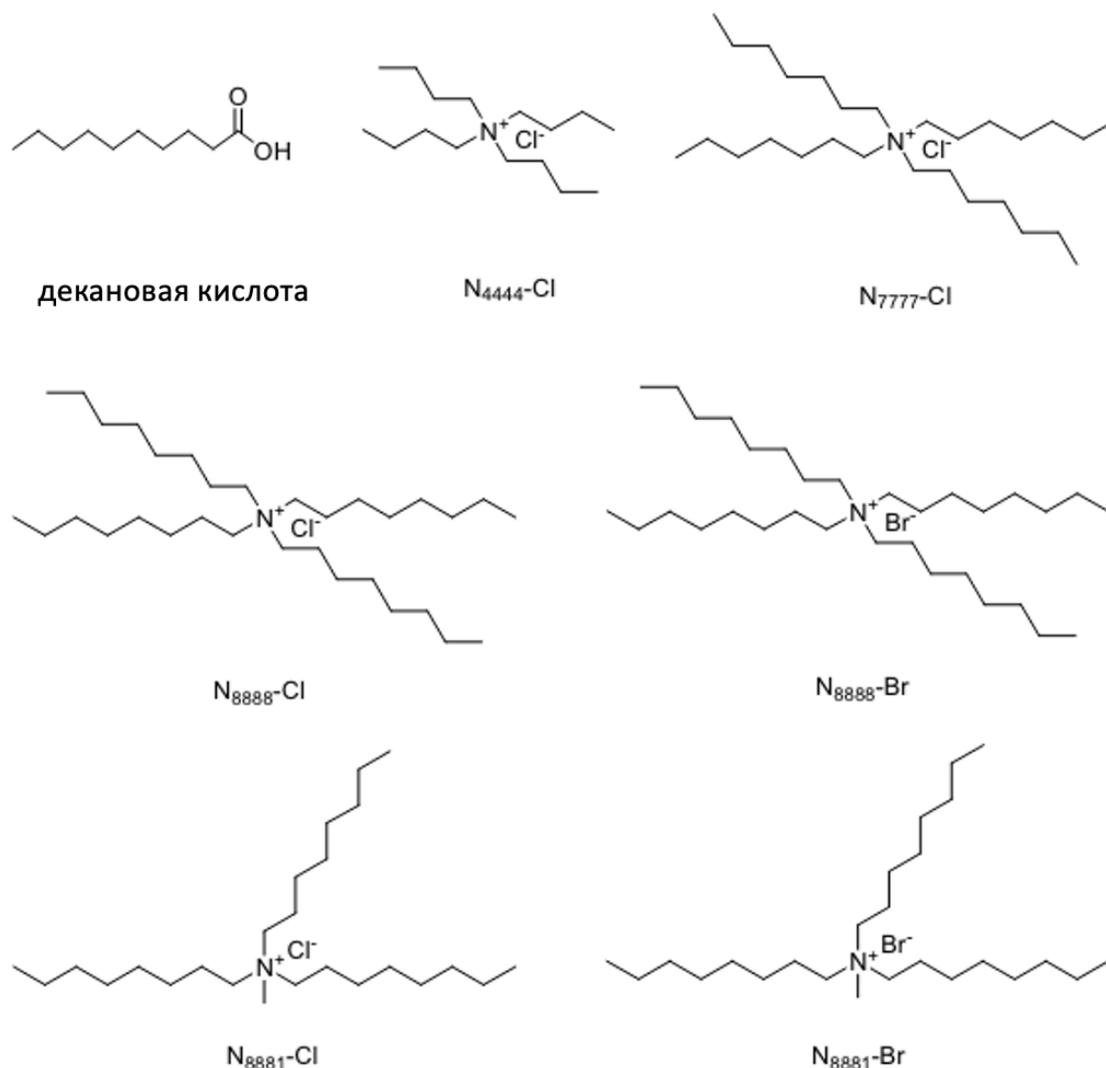


Рисунок 2 – Структура компонентов, используемых для изготовления гидрофобных ЭР на основе четвертичных аммонийных соединений [29]

Авторы также определили содержание воды в ЭР до и после контакта с водной фазой при объемном соотношении 1:1. После смешивания предложенных ими гидрофобных эвтектических растворителей с водой содержание воды в фазе ЭР увеличилось с 8140 до 69380 мг/кг. Это показало, что данные ЭР способны включать в свою структуру воду в достаточно высокой концентрации, что потенциально может приводить к их разрушению,

однако дальнейшие исследования по устойчивости данных ЭР при контакте с водой не проводились.

Несмотря на эти ограничения, гидрофобные ЭР на основе четвертичных аммонийных соединений нашли широкое применение в качестве экстрагентов. Они применялись для извлечения из воды красителей [30], бисфенолов [31], антибиотиков [32] [33], пестицидов [34] и металлов [35]. Однако стоит отметить, что гидрофобные ЭР на основе четвертичных аммонийных соединений могут проявлять нестабильность при контакте с водной фазой. Взаимодействие с водой может приводить к частичному или полному гидролизу аммонийных солей, что снижает их эффективность и изменяет физико-химические свойства растворителя. Например, при длительном контакте с водой тетрабутиламмоний бромид, один из наиболее распространенных компонентов гидрофобных ЭР, может подвергаться гидролизу, что приводит к его растворению в водной фазе и нарушению структуры эвтектического растворителя. Этот процесс может значительно влиять на механизм и селективность экстракции, а также снижать стабильность данного ЭР.

Несмотря на потенциальную нестабильность таких ЭР, исследователями было уделено ограниченное внимание вопросам устойчивости данных ЭР при контакте с водой. Большинство работ сосредоточены на достижении наиболее эффективных условий экстракции, таких как степень извлечения и коэффициент концентрирования аналитов. Авторы редко изучают состав ЭР до и после экстракции, в то время как он может значительно изменяться за счет растворения полярных компонентов и насыщения растворителя водой. В результате проблема гидролиза и сопутствующей нестабильности остается недостаточно изученной до сих пор. Эти ограничения могут приводить к трудностям для практического применения данных ЭР, особенно в тех случаях, когда контакт с влагой или водными растворами неизбежен.

Для решения данной проблемы предложены новые гидрофобные ЭР на основе терпеноидов [36]. Терпеноиды, такие как ментол, тимол, камфора

(Рисунок 3), обладают устойчивостью к гидролизу и высокой биосовместимостью [37]. ЭР на их основе показали себя более устойчивыми по отношению к воде по сравнению с растворителями на основе четвертичных аммонийных соединений [38]. Благодаря своей структуре терпеноиды не подвергаются гидролизу при контакте с водой, что позволяет сохранять стабильность и эффективность эвтектических растворителей на их основе [39].

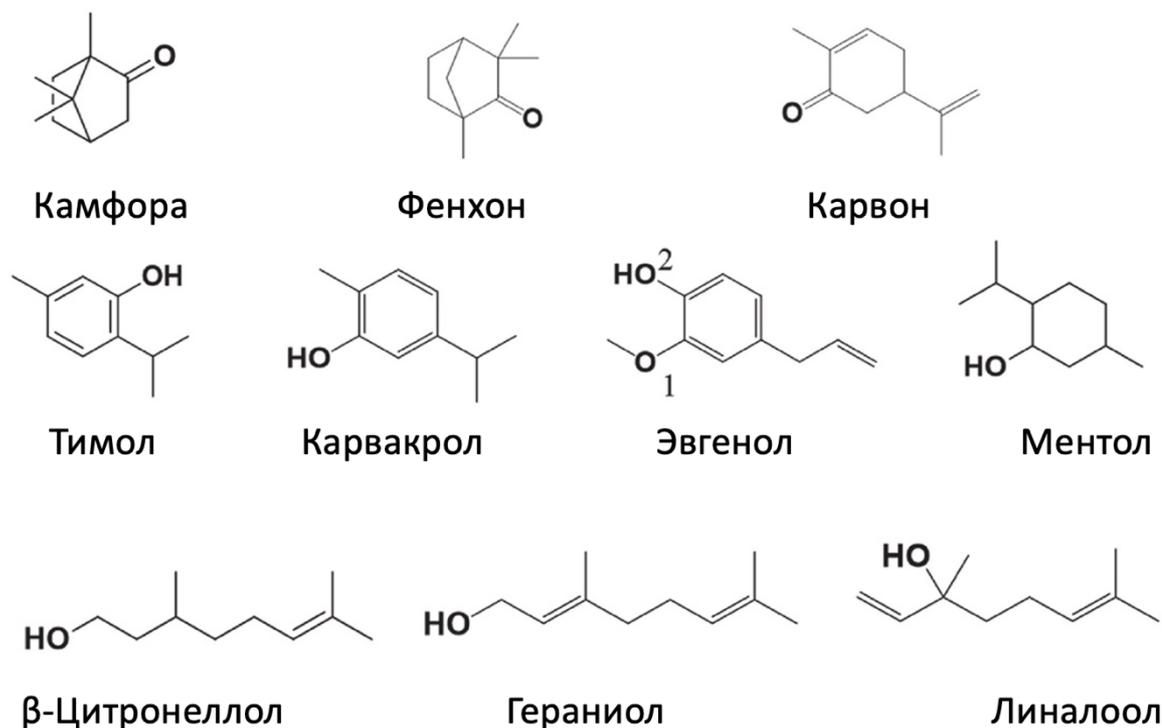


Рисунок 3 – Структура терпеноидов, используемых для изготовления гидрофобных глубоких эвтектических растворителей [40]

Исследования показали, что данные ЭР могут сохранять свои физико-химические свойства и селективность экстракции даже при длительном контакте с водной фазой. Кроме того, эти растворители имеют преимущества в виде низкой токсичности и высокой экологической безопасности, что делает их предпочтительными для использования в различных областях аналитической химии [41] и промышленности [42] [43], например, для извлечения красителей [44], канцерогенов [45], фталатов [46] и лекарственных веществ [47].

Однако они имеют ограничения: низкая стабильность при высоких температурах или в присутствии сильных кислот и щелочей, возможные взаимодействия с активными компонентами экстрагируемых веществ, что может изменять их свойства, а также высокая стоимость некоторых природных терпеноидов [48].

Таким образом, гидрофобные ЭР на основе как четвертичных аммонийных соединений, так и терпеноидов представляют собой перспективный класс растворителей с широкими возможностями применения в различных областях, однако вопрос устойчивости и стабильности данных ЭР при контакте с водой до сих пор остается предметом обсуждения.

Вне зависимости от природы используемых для изготовления ЭР компонентов существует несколько способов их приготовления. ЭР обычно легко изготовить, а метод приготовления определяется доступным оборудованием. Наиболее часто используемый метод изготовления включает нагревание и перемешивание компонентов ЭР в инертной атмосфере или в условиях окружающей среды до образования однородной жидкости. В данном случае химическая реакция в традиционном понимании не происходит. Следовательно, не требуются дополнительные растворители и стадии очистки, что делает процесс изготовления ЭР простым и легко масштабируемым. Однако ограничением данного способа является вероятность термической деградации нестабильных компонентов ЭР. Эти ограничения особенно актуальны при работе с термочувствительными веществами, такими как сахара [49].

Также не всегда возможно проведение этого процесса в закрытой системе, что приводит к взаимодействию смеси с кислородом воздуха и поглощению воды из атмосферы при использовании гигроскопичных компонентов, таких как холин хлорид. Поэтому были предложены альтернативные способы изготовления эвтектических растворителей [50]. Эти методы включают растворение в подходящем растворителе с последующим вакуумным испарением или механохимические способы изготовления [51]. В

методе выпаривания компоненты растворяются в воде или другом растворителе, после чего большая часть растворителя выпаривается в вакууме. Затем конечную смесь выдерживают в эксикаторе с силикагелем до достижения постоянной массы. Ограничением данного метода является необходимость использования дополнительного оборудования, такого как вакуумный шкаф, а также трудность в полном извлечении влаги из конечного растворителя и большие временные затраты.

В механохимическом способе твердые компоненты помещают в ступку, шаровую мельницу или экструдер, после чего их измельчают до образования однородной жидкости, обычно в атмосфере азота или аргона [52]. Так, была предложена работа по изготовлению ЭР с использованием технологии экструзии. В ходе экспериментов были изготовлены три типа ЭР: смесь хлорида холина и мочевины, хлорида холина с фруктозой и хлорида холина с $ZnCl_2$. В результате применения технологии экструзии удалось значительно сократить время изготовления ЭР с нескольких часов до нескольких минут, что позволило избежать термической деградации компонентов и получить продукты более высокой чистоты. Оптимизация условий процесса, таких как температура экструзии и скорость вращения шнека, позволила добиться высокой производительности и эффективности процесса. Также было показано, что снижение размера частиц реагентов и предварительное смешивание компонентов позволили увеличить скорость изготовления и снизить температуру процесса до $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ при сохранении высокого качества конечного продукта. Авторы работы также отметили универсальность предложенного метода, который может быть адаптирован для изготовления различных типов ЭР, что открывает широкие возможности для его применения в различных областях химической промышленности.

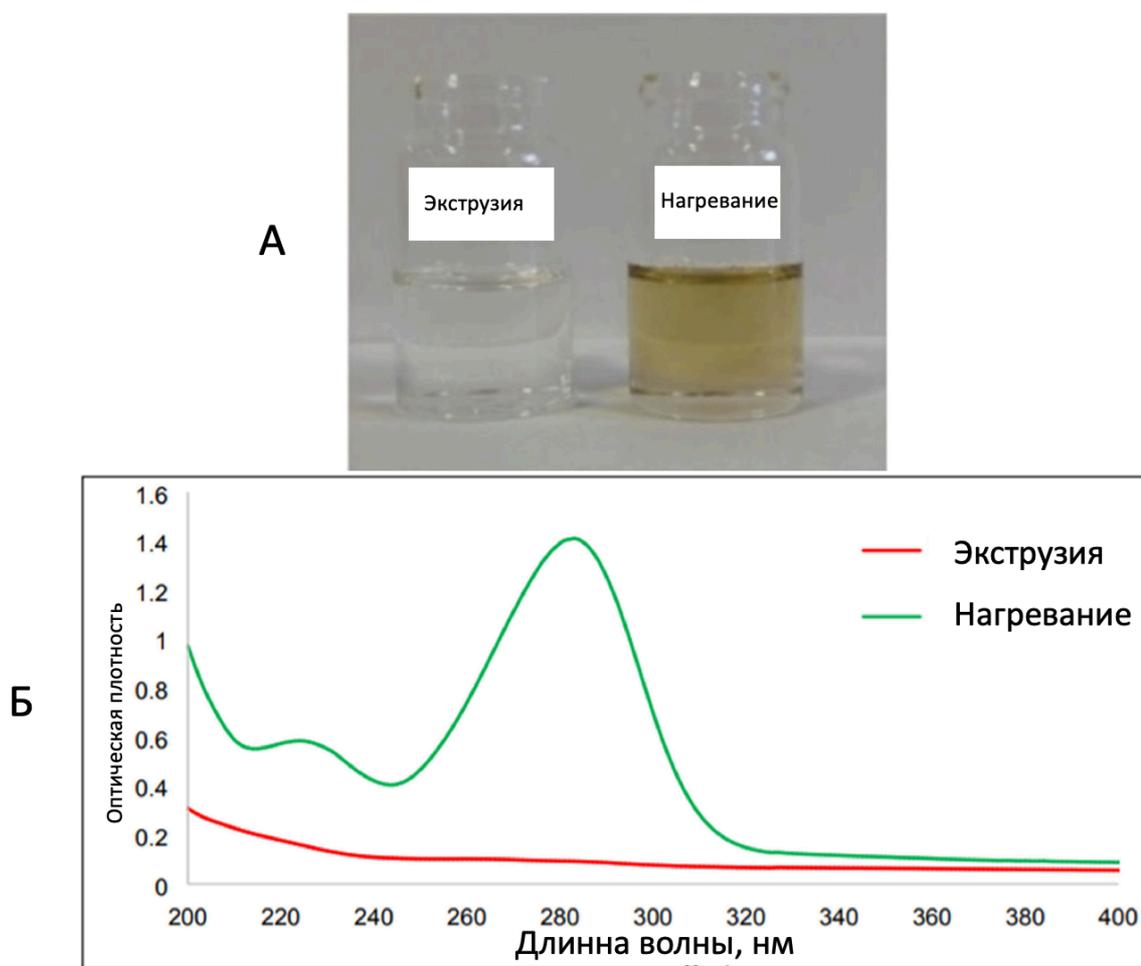


Рисунок 4 – А – ЭР полученные методом экструзии и методом нагревания и Б – их спектры поглощения [52]

После процедуры изготовления ЭР, особенно для новых, еще не описанных в литературе смесей, важным этапом является подтверждение образования именно эвтектического состояния, а также определение функциональных группы веществ, участвующих в образовании связей. Для этого используются различные методы анализа.

Основными методами анализа полученных ЭР являются инфракрасная спектроскопия [53], методы ядерного магнитного резонанса [54] и методы термогравиметрии (ТГА) и дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) (Рисунки 5-8). Первые два метода служат для подтверждения факта образования водородных связей и для установления функциональных групп, ответственных за это [55] [56]. Чаще всего образование ЭР обусловлено

появлением новых межмолекулярных водородных связей между донорами и акцепторами, что подтверждается появлением или изменением полос поглощения в области $3000-3500\text{ см}^{-1}$ в ИК спектре ЭР (Рисунок 5). Методы ЯМР, особенно NOESY, позволяют более детально изучить и подтвердить образование водородных связей и определить, какие именно группы за это отвечают, а также предположить трехмерную структуру полученных систем.

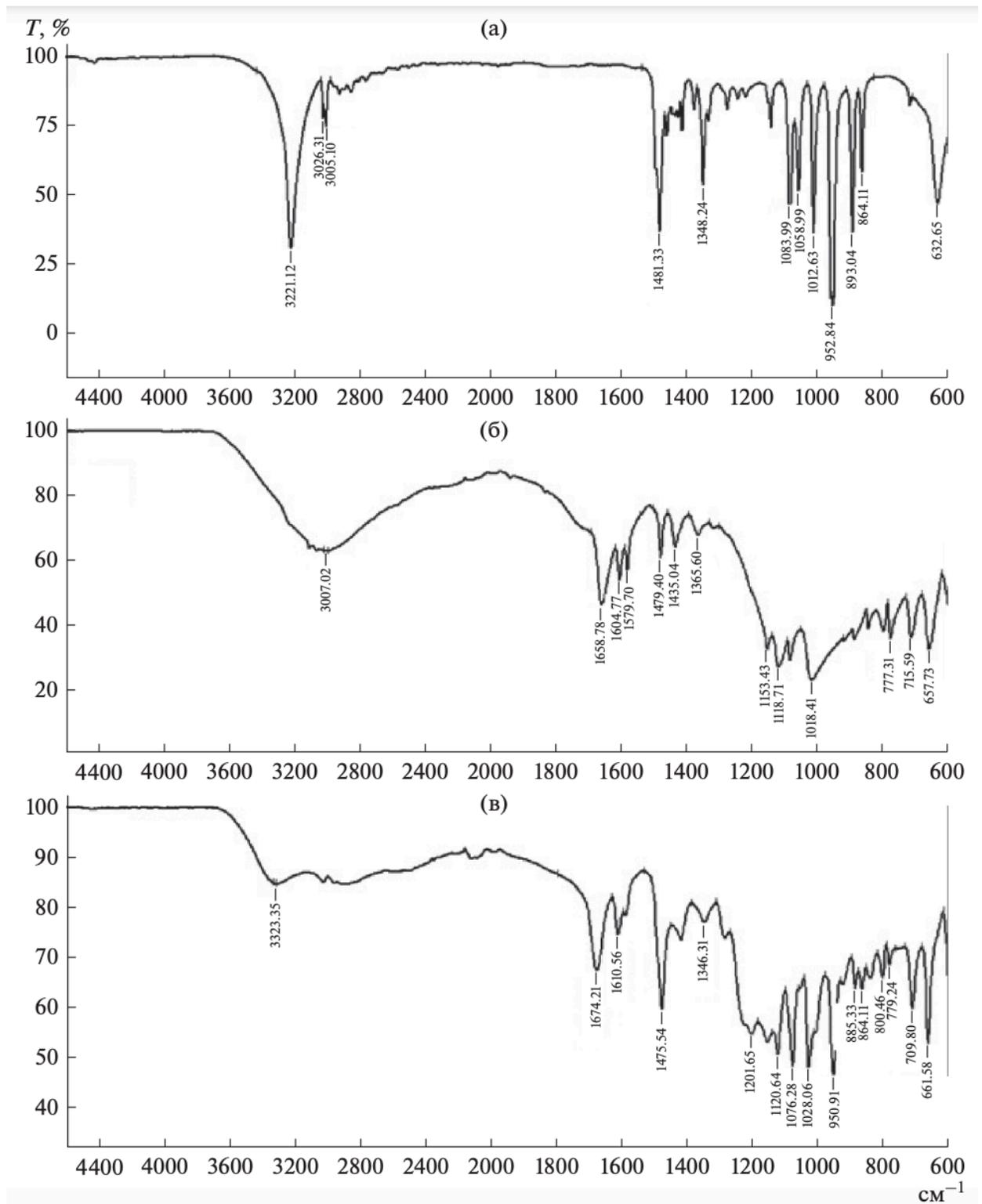


Рисунок 5 – ИК-спектры хлорида холина (а), сульфосалициловой кислоты (б) и эвтектического растворителя на их основе (в) [57]

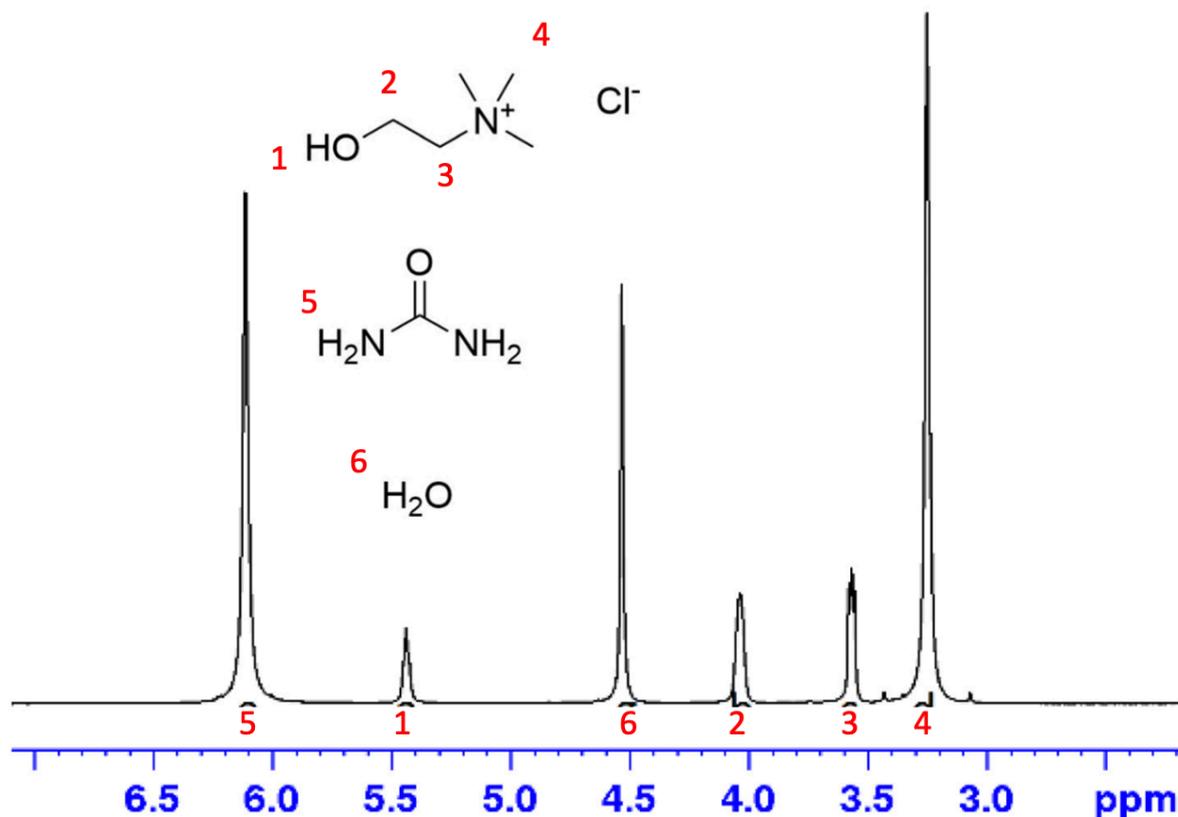


Рисунок 6 – ЯМР спектр ЭР на основе холина хлорида, мочевины и воды [58]

Методы ТГА и ДСК [59] позволяют изучить термическую стойкость получаемых ЭР, а также найти температуры плавления для построения фазовых диаграмм и определения точки эвтектики [60]. В отличие от многих других материалов, ЭР обычно демонстрируют различные характеристики фазовых переходов. Многие ЭР легко подвергаются как кристаллизации, так и стеклованию, в зависимости от их состава, соотношения компонентов и скорости нагрева/охлаждения [61]. Стеклование ЭР является общей и важной особенностью, и оно может преобладать даже при относительно малых скоростях охлаждения [62]. За фазовые переходы чаще всего отвечают межмолекулярные взаимодействия, обусловленные энтропией смешения, ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями, водородными и ионными связями. Таким образом, вопрос поиска условий проведения ДСК анализа для

определения точных температур фазовых переходов и точек эвтектики до сих пор остается открытым [63].

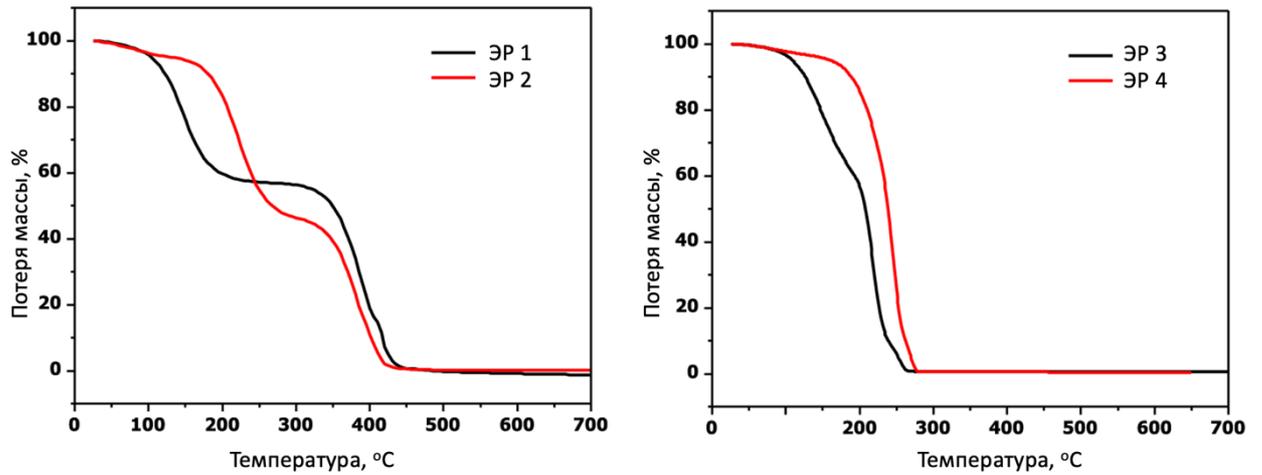


Рисунок 7 – Термогравиметрическая кривая ЭР при скорости нагрева 1 К·мин⁻¹ в атмосфере азота. ЭР1 - бромид метилтрифенилфосфония/этиленгликоль 1/4, ЭР2 - бромид метилтрифенилфосфония/глицерин 1/4, ЭР3 - бромид тетрабутиламмония/этиленгликоль 1/4, ЭР4 - бромид тетрабутиламмония/глицерин 1/4 [64]

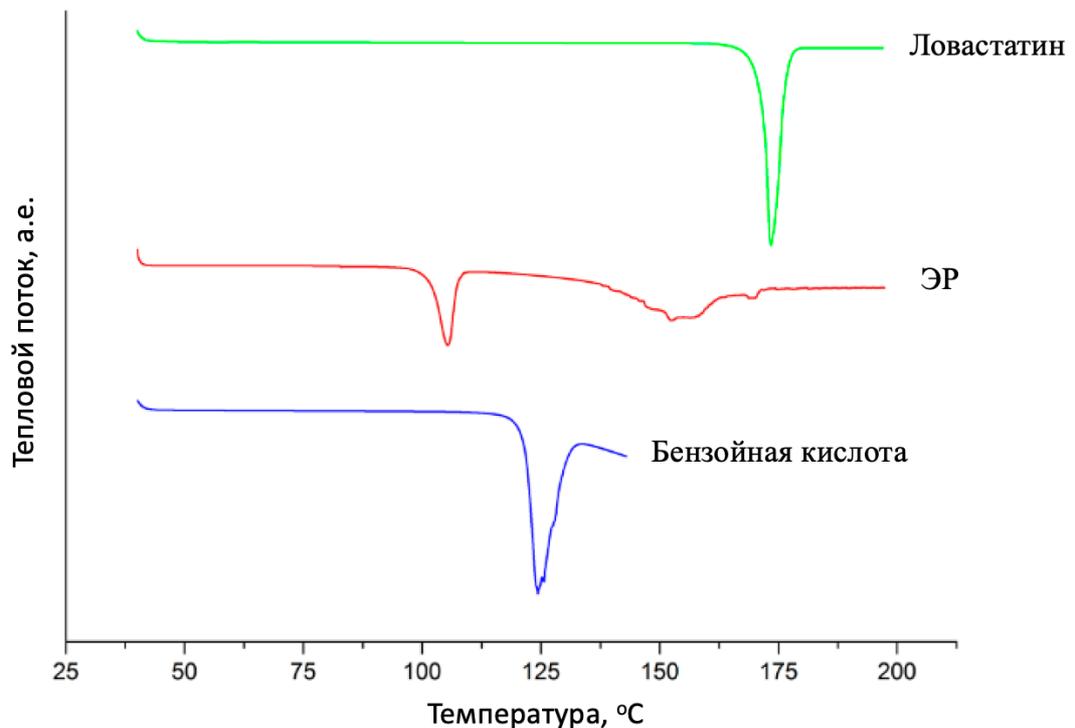


Рисунок 8 – Кривые дифференциальной сканирующей калориметрии, полученные при анализе эвтектической смеси ловастатина и бензойной кислоты [65]

После подтверждения факта образования эвтектического состояния обычно изучают такие основные физико-химические свойства полученных систем, как плотность, вязкость и электропроводность, поскольку именно эти свойства определяют применимость данных растворителей для решения разнообразных задач.

Одной из ключевых физических характеристик, влияющих на применение ЭР в различных областях, является плотность. Плотность ЭР играет важную роль в их использовании как растворителей, а также в их поведении в различных химических процессах [66]. Было показано, что плотность ЭР зависит от нескольких факторов, среди которых основным является состав компонентов [67]. Плотность ЭР определяется плотностью исходных компонентов и их молекулярной структурой. Температура также играет существенную роль в определении плотности ЭР [68]. С увеличением температуры плотность, как правило, уменьшается из-за расширения объема раствора. Кроме того, взаимодействия между компонентами, такие как водородные связи и другие виды взаимодействий между молекулами компонентов ЭР, могут существенно влиять на плотность [69]. Более сильные взаимодействия могут привести к более плотной упаковке молекул, что увеличивает плотность получаемых растворителей [70]. Плотность ЭР оказывает значительное влияние на возможность их применения в различных областях, в первую очередь, в экстракции. Более плотные ЭР могут способствовать лучшему разделению фаз при реализации стадий жидкостной экстракции. Одним из примечательных аспектов исследования плотности ЭР является различие между ионными растворителями и растворителями на основе терпеноидов. Ионные ЭР, такие как смеси на основе хлорида холина и различных доноров водородной связи, обычно имеют плотность выше единицы г/см^3 [71]. Это объясняется высокой плотностью ионных компонентов и сильными взаимодействиями между ними, что приводит к плотной упаковке молекул в растворе. С другой стороны, эвтектические растворители на основе терпеноидов обычно имеют плотность меньше

единицы г/см^3 [72]. Низкая плотность позволяет им легче проникать в пористые материалы и биологические ткани.

Вязкость как одно из ключевых свойств ЭР, которое определяет их применимость в качестве экстрагентов, зависит от состава компонентов и их молекулярной структуры. Вязкость ЭР зависит от типа взаимодействий между молекулами компонентов, таких как водородные связи, ван-дер-ваальсовы силы и ионные взаимодействия. Например, смеси на основе хлорида холина и различных доноров водородных связей, таких как мочевины [7] или глицерин [73], демонстрируют различную вязкость в зависимости от природы взаимодействий между компонентами [74]. Молярное соотношение компонентов также оказывает значительное влияние на вязкость ЭР. Изменение соотношения между компонентами может приводить к существенным изменениям в вязкости растворителя [75]. Например, увеличение доли хлорида холина в смеси с мочевиной приводит к увеличению вязкости из-за образования более сильных ионных взаимодействий и водородных связей, что препятствует свободному движению молекул в растворе. Температура является еще одним важным фактором, влияющим на вязкость ЭР. Вязкость обычно уменьшается с увеличением температуры из-за снижения плотности водородных связей и увеличения кинетической энергии молекул, что позволяет им легче перемещаться [76]. Вязкость ЭР также оказывает значительное влияние на возможность их применения в различных областях. Высокая вязкость ЭР делает их эффективными для применения в процессах, требующих медленного высвобождения или устойчивости к перемешиванию, таких как катализ и электрохимические процессы. Высокая вязкость также может быть преимуществом в процессах экстракции, где она способствует лучшему удержанию экстрагируемых веществ и предотвращает их потерю.

Электропроводность ЭР зависит от их состава, а также от температуры. В отличие от традиционных органических растворителей, которые часто требуют добавления электролитов для повышения электропроводности,

большинство ЭР уже содержат ионы, что способствует их естественной ионной электропроводности. Электропроводность ЭР обычно измеряется в пределах от нескольких мС/см до нескольких сотен мС/см [74]. Это значение варьируется в зависимости от концентрации ионов, температуры и конкретного соотношения компонентов [77]. Одним из ключевых факторов, влияющих на электропроводность, является подвижность ионов в растворе. Так как большинство ЭР имеют относительно высокую вязкость по сравнению с молекулярными растворителями, это снижает подвижность ионов и, следовательно, уменьшает электропроводность. Наличие сильных водородных связей и ионных взаимодействий в структуре ЭР может ограничивать движение ионов, что необходимо учитывать при оптимизации их состава для решения конкретных задач [78]. Температура также играет важную роль в определении электропроводности ЭР. При повышении температуры вязкость ЭР уменьшается, что приводит к увеличению подвижности ионов и, как следствие, к повышению электропроводности. Таким образом, регулирование температуры является эффективным способом управления физико-химическими свойствами ЭР [79].

К настоящему времени известно большое число двойных, тройных и даже четверных смесей, которые представляют собой эвтектические растворители, изготовленные из разных доноров и акцепторов водородной связи. Широкий диапазон настраиваемых свойств, таких как растворяющая способность, плотность, вязкость, электропроводность, делает ЭР многообещающей альтернативой существующим молекулярным растворителям.

Уникальные свойства ЭР привели к их широкому внедрению в различные области науки. Внедрение в практику химического анализа большого числа как гидрофобных, так и гидрофильных ЭР вызвало вопрос об их устойчивости при анализе различных объектов, в первую очередь водных сред. Поскольку большая часть даже гидрофобных ЭР содержит ионные соединения, например четвертичные аммонийные соли, становится важным

более детально понимать влияние воды на свойства и устойчивость ЭР различной природы. Это связано с тем, что при разработке процедур экстракции аналитики чаще всего сосредотачиваются на оптимизации таких характеристик, таких как селективность, чувствительность, линейный диапазон, предел обнаружения и т.д., и уделяют меньшее внимание исследованию процессов, происходящих с самим экстрагентом. Поскольку ЭР получают преимущественно за счет образования водородных связей между донором и акцептором. Присутствие высокополярного растворителя, такого как вода, может влиять не только на их физико-химические свойства, но и на их экстракционные возможности. Поэтому при возрастающем интересе к экстракции с применением ЭР должное внимание следует уделить изучению строения ЭР, взаимодействию ЭР с матрицей образца, особенно если она содержит значительное количество воды, и с целевыми аналитами. Эта информация может быть полезной, а иногда критически важной для понимания механизмов экстракции и ее оптимизации.

За последнее время опубликовано несколько сотен обзорных статей, посвященных применению ЭР в различных областях науки, однако работы, посвященные влиянию воды на устойчивость и свойства ЭР, только начинают появляться в литературе [80]. Наиболее полная обзорная статья, посвященная этим проблемам, была опубликована в 2020 году (после наших исследований по устойчивости ЭР при контакте с водой) [81]. В данной работе собраны и проанализированы экспериментальные данные и теоретические результаты для систем ЭР/ H_2O при различных соотношениях, а также данные системы сравнены с системами ионных жидкостей/ H_2O . Авторы делают вывод, что бинарные системы ЭР/ H_2O более сложны, чем системы ионных жидкостей/ H_2O , и необходимы более детальные исследования для выявления различий между водным раствором ЭР и водным раствором отдельных исходных компонентов ЭР [81] (Рисунок 9). В ряде работ также подтверждаются эти данные и делается вывод, что вода может быть частью надмолекулярной структуры ЭР за счет встраивания в его структуру без

существенного разрушения, однако выше определенного содержания воды эта структура может распадаться с образованием водного раствора отдельных компонентов.

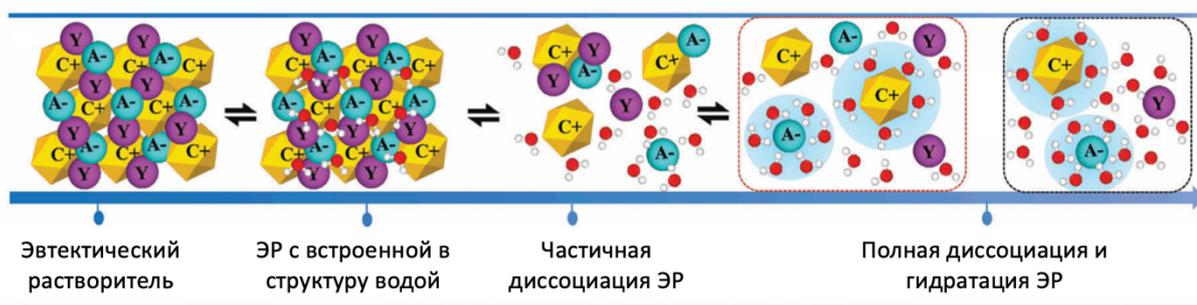


Рисунок 9 – Общая схема влияния воды на структуру ЭР. Желтый, синий, красный и фиолетовый цвета обозначают катион, анион, H₂O и донор водородной связи соответственно [81]

Так, в работе [82] было изучено, как вода изменяет структуру эвтектических растворителей на основе хлорида холина и мочевины. Исследователи использовали рассеяние нейтронов и моделирование структуры для анализа смесей хлорид холина/мочевина/вода при разном содержании воды. Они обнаружили, что даже небольшое количество воды значительно влияет на структуру ЭР, поэтому важно точно измерять и указывать содержание воды в таких системах. Авторы показали, что структура ЭР сохраняется до тех пор, пока содержание воды не превышает 42 % (м/м). Это происходит благодаря тому, что вода образует отдельные области вокруг катионов холинния, что помогает сохранить исходную структуру растворителя. Однако при содержании воды более 51 % (м/м) структура ЭР разрушается и система превращается в водный раствор компонентов ЭР. Результаты показали, что взаимодействия между компонентами ЭР ослабевают при добавлении воды, но полностью не исчезают до высокой концентрации воды.

Вышеуказанная работа имеет большое значение для доказательства роли воды в составе ЭР и проводит грань между ЭР и их водными растворами. В другой работе авторы применили молекулярно-динамическое

моделирование для понимания влияния воды на свойства и стабильность ЭР на основе хлорида холина и этиленгликоля [83]. Результат показал, что переход данного ЭР из тройной системы в водный раствор представляет собой ступенчатое изменение. Когда содержание воды превышало 40 % (мол./мол.), водородная связь между этиленгликолем и акцептором водородной связи резко разрушалась. Результаты исследования показали, что влияние воды на структуру ЭР нелинейно. При превышении определенного критического содержания воды сеть водородных связей между двумя компонентами ЭР начинает разрушаться. Тем не менее, несмотря на потенциальное разрушение ЭР водой, добавление воды в небольших концентрациях может быть использовано для контролируемого изменения физико-химических свойств ЭР, например плотности, вязкости и растворяющей способности.

В работе [84] исследуется влияние воды на ЭР, в состав которого вместо холина хлорида входит тетрабутиламмоний бромид, который также часто используется в качестве акцептора водородной связи в смеси с глицерином. Данное исследование направлено на понимание механизмов образования данного ЭР и влияния воды на его стабильность.

Авторы использовали методы молекулярной динамики и квантовомеханические расчеты. В экспериментах изучались структуры ЭР тетрабутиламмоний бромид:глицерин в различных молярных соотношениях (1/2, 1/3, 1/4), а также их смеси с водой в различных объемных соотношениях (20/80, 50/50, 80/20, 90/10). В исходных ЭР были обнаружены три типа водородных связей: между бромид-ионами и гидроксильными группами глицерина (O–H...Br), внутримолекулярные связи в структуре глицерина (O–H...H–O) и связи между разными молекулами глицерина. Также было обнаружено, что при увеличении содержания глицерина в составе ЭР эти связи ослабевают, но все же играют важную роль в стабилизации структуры. Было показано, что добавление воды оказывает значительное влияние на структуру данного ЭР. При малом содержании воды (до 20 %) образуются стабильные связи между водой и структурой ЭР без ее существенного изменения. Однако

при содержании воды выше 50 % водородные связи O–H...Br разрушаются, что приводит к дестабилизации структуры ЭР, а также с увеличением содержания воды в ЭР связи между тетрабутиламмоний бромидом и глицерином ослабевают, а между молекулами воды и глицерином образуются новые прочные водородные связи. Таким образом было показано, что вода оказывает существенное влияние на стабильность и межмолекулярные взаимодействия внутри эвтектических растворителей. Кроме того, становится очевидным, что вода по-разному влияет на свойства ЭР в зависимости от природы его компонентов, а также от соотношения компонентов внутри ЭР. Поэтому в настоящее время нет единой теории влияния воды, а также чётких границ устойчивости конкретных эвтектических растворителей. Поэтому в последнее время все больше внимания уделяется экспериментальным исследованиям в данной области. Это связано в первую очередь с тем, что вода существенно снижает вязкость растворителей, что зачастую благоприятно сказывается на их эксплуатационных характеристиках. Радикальное снижение вязкости позволяет более эффективно использовать данные растворители и в качестве экстрагентов, поэтому понимание влияния воды на стабильность ЭР является критически важным для их внедрения в химический анализ.

Высокая вязкость является одним из основных препятствий в применении ЭР, поскольку это ограничивает массоперенос между образцом и фазой экстрагента. Кроме того, образующаяся вязкая фаза, содержащая целевые аналиты, несовместима с большинством аналитических приборов. Добавление воды приводит к существенному снижению вязкости, ускорению массообмена и повышению эффективности экстракции. Помимо влияния на указанные выше свойства (вязкость, плотность, электропроводность и др.), добавление воды может привести к изменению полярности ЭР, что, в свою очередь, может существенно повлиять на их способность растворять целевые аналиты. Также можно повысить эффективность экстракции за счет способности воды образовывать водородные связи с большим числом аналитов.

Кроме влияния воды на стабильность ЭР, большое внимание уделяется их термической стабильности. Это связано с тем, что многие ЭР состоят из термически нестабильных веществ, например сахаров, а также с тем, что ЭР позиционируются как низколетучие растворители, в отличие от молекулярных растворителей. Исследования показали, что ЭР имеют низкое, но заметное давление насыщенного пара в условиях окружающей среды [60]. Давление пара возникает за счет улетучивания одного или всех компонентов ЭР. Проведено систематическое исследование термической стабильности 40 ЭР методом термогравиметрического анализа [85]. Было показано, что процесс разложения ЭР отличается от процесса разложения ионных жидкостей. ЭР представляют собой многокомпонентные системы, хотя между каждым отдельным компонентом существует сильное взаимодействие. При нагревании ЭР претерпевают двухэтапный процесс разложения. Сначала испаряются относительно летучие молекулярные компоненты (обычно доноры водородных связей), после чего происходит разложение остальных компонентов. Сила водородной связи определяет скорость испарения доноров водородных связей и, следовательно, температуру начала разложения. Таким образом на термическую стабильность ЭР во многом влияет термическая стабильность доноров водородных связей. Помимо термогравиметрического анализа, для изучения летучести ЭР использовалась ИК-Фурье спектроскопия [86]. Было показано, что некоторые ЭР летучи при температуре и давлении окружающей среды, что приводит к необходимости повышенного внимания на герметичность тары, особенно в промышленных масштабах [87].

Одним из основных факторов, определяющих термическую стабильность ЭР, является природа компонентов, входящих в их состав. В работе [88] приведены данные, показывающие, что различия в химической структуре компонентов ЭР могут существенно влиять на их устойчивость при нагревании. Например, термическая стабильность ЭР, состоящих из фосфониевых соединений в смеси со спиртами, сильно зависит от природы донора водородных связей. При этом установлено, что чистые компоненты,

такие как аллилтрифенилфосфоний бромид и глицерин, демонстрируют более высокую термическую стабильность по сравнению с их эвтектическими смесями.

Важную роль в термической стабильности ЭР также играет соотношение молекул в смеси. Например, для системы хлорид холина и мочевины увеличение доли холина приводит к повышению термической стабильности смеси. Это связано с тем, что холин более термостабилен по сравнению с мочевиной, и увеличение его концентрации повышает общую термическую стабильность системы [89].

В работе [90] рассматривается влияние температуры и времени нагрева на стабильность ЭР. Было показано, что при длительном нагревании масса ЭР уменьшается из-за испарения и разложения. При этом скорость потери массы существенно возрастает с повышением температуры. Например, потеря массы для системы холина хлорида и малоновой кислоты за 10 часов при 60 °С составляет 5,98 %, тогда как при 120 °С эта величина достигает 35,48 %. Исследования, представленные в работе, показывают, что термическая стабильность ЭР определяется множеством факторов, включая химическую природу компонентов, их соотношение в смеси, температуру и длительность нагрева, а также скорость нагрева [91]. Понимание этих факторов позволяет разрабатывать более устойчивые ЭР, которые могут найти широкое применение в различных промышленных процессах, требующих высокой термической стабильности растворителей. Эти исследования обращают внимание на необходимость более детального и тщательного изучения термической стабильности ЭР.

Кроме термической стабильности и влияния воды, в настоящее время существует еще много направлений в изучении свойств ЭР. Помимо термической стабильности активно исследуются химическая, электрохимическая, радиолитическая и биологическая стабильность этих растворителей. Химическая стабильность включает изучение реакций ЭР с различными химическими веществами и условиями, приводящими к

образованию новых связей и разложению ЭР. Электрохимическая стабильность изучается в аспекте устойчивости ЭР к электролизу и их поведению в электрохимических процессах, учитывая влияние различных факторов, таких как тип анода и катода. Радиолитическая стабильность оценивает устойчивость ЭР к воздействию ионизирующего излучения, описывая процессы разложения под воздействием радиации. Биологическая стабильность рассматривает устойчивость ЭР в биологических системах и их возможное применение в биохимии, сельском хозяйстве и экологии, включая механизмы биологического разложения и их влияние на окружающую среду. Изучение всех этих видов стабильности имеет важное значение, поскольку стабильность растворителей определяет их пригодность и эффективность в различных промышленных процессах. Понимание и контроль стабильности ЭР позволяет разрабатывать более устойчивые и безопасные материалы, что способствует их широкому применению в таких областях, как органический и неорганический синтез, электрохимия, разделение и экстракция. Нестабильность растворителя может приводить к непредсказуемым изменениям в химических процессах, снижению эффективности и увеличению затрат на очистку и утилизацию. Поэтому исследование стабильности ЭР является ключом к их успешному и безопасному использованию в различных сферах [92].

1.2. Применение эвтектических растворителей в аналитической химии

Эвтектические растворители находят все более широкое применение в «зеленой» аналитической химии. Эти растворители открывают новые возможности в аналитической химии, предлагая множество преимуществ перед традиционными органическими растворителями и ионными жидкостями. В отличие от многих традиционных органических растворителей, ЭР часто нетоксичны, биоразлагаемы и обладают низкой летучестью, что значительно снижает риск воздействия на окружающую среду и здоровье человека [93]. Эта характеристика делает их особенно привлекательными для применения в аналитической химии, где безопасность и устойчивость являются важными критериями выбора реагентов и методов [94].

Значительное преимущество ЭР заключается в их высокой растворяющей способности [95]. Благодаря уникальной структуре эти растворители могут эффективно растворять широкий спектр органических и неорганических соединений, что позволяет использовать их в различных аналитических методах, таких как экстракция, хроматография и спектроскопия. ЭР также демонстрируют высокую селективность по отношению к различным анализам, что может быть полезно для улучшения чувствительности и точности [96]. Кроме того, эвтектические растворители обладают уникальными физико-химическими свойствами, которые могут быть настроены путем изменения состава компонентов смеси. Эта гибкость позволяет создавать растворы с заранее заданными свойствами, оптимальными для конкретных аналитических задач. В сравнении с традиционными растворителями, такими как вода, метанол или ацетон, ЭР предлагают более широкие возможности для оптимизации аналитических процессов. Например, они могут быть использованы при более низких температурах, что позволяет минимизировать термическое разложение чувствительных соединений. Однако, несмотря на многочисленные

преимущества, использование эвтектических растворителей в аналитической химии также существует ряд ограничений. К ним относятся необходимость стандартизации и протоколирования методов изготовления ЭР для получения воспроизводимых экстракционных систем, а также изучение их взаимодействия с аналитами, компонентами пробы, а также материалами оборудования. Тем не менее, текущие исследования и разработки в этой области показывают, что эвтектические растворители имеют большой потенциал для улучшения и расширения возможностей аналитической химии, предлагая безопасные, эффективные и устойчивые альтернативы традиционным растворителям.

Одной из наиболее значимых областей применения этих растворителей, в том числе в аналитической химии, является экстракция [97]. ЭР могут быть использованы для извлечения органических и неорганических соединений из сложных матриц, таких как почвы [98], растительные материалы [99] и биологические образцы [100]. Высокая растворяющая способность ЭР позволяет эффективно извлекать целевые аналиты, что особенно важно для анализа следовых количеств веществ. Применение ЭР в экстракции часто сопровождается увеличением эффективности и селективности процесса, что приводит к получению более точных и воспроизводимых результатов.

Кроме того, ЭР используются в электроаналитике, анализе газов в качестве растворителей для органического и неорганического синтеза сорбентов и материалов, в хроматографии и пробоподготовке.

В одной из первых публикаций, посвященных ЭР, описано их использование в качестве среды для электрохимического осаждения металлов [101]. Их высокая растворяющая способность по отношению ко многим соединениям металлов, включая соли и оксиды, и их высокая термическая и электрохимическая стабильность привели к большому количеству публикаций по электрохимическому осаждению отдельных металлов, таких как медь [102] и цинк [103] и полиметаллических соединений (например, композиты самария-кобальта [104] и никель-углеродных нанотрубок [105]). В

аналитической химии это направление интересно с точки зрения электрохимического нанесения различных соединений на поверхность электродов с целью придания им нужных свойств, например, селективности и/или стабильности.

В настоящее время использование эвтектических растворителей в электроаналитике разделено на два направления: одно посвящено получению полимерных пленок на поверхности электродов, а другое – получению металлических нанокompозитов.

Первая работа в этой области была представлена в 2014 г. [106], описывающая использование ЭР состава хлорид холина/этиленгликоль, мочевины или глицерин (1/2) в качестве среды для электрополимеризации 3,4-этилендиокситиофена на поверхности стеклоуглеродного электрода. Модифицированные электроды показали большой электрокаталитический эффект, значительно более высокую чувствительность и более низкий предел обнаружения аскорбиновой кислоты по сравнению с немодифицированными электродами. В работе [107] была представлена оптимизация условий и более детальное изучение происходящих процессов. В работе также описано изготовление электрода, модифицированного проводящим полимером, поли(3,4-этилендиокситиофеном), в ЭР (хлорид холина/этиленгликоль, мочевины или глицерин (1/2)) и его использование для определения концентрации аскорбиновой кислоты, дофамина и мочевой кислоты. В другой работе была предложена процедура изготовления модифицированных электродов, основанная на электрополимеризации бриллиантового крезолового синего в ЭР (хлорид холина/этиленгликоль 1/2). Пленки поли(бриллиантового крезолового синего) формировали электроосаждением на стеклоуглеродных электродах, модифицированных углеродными нанотрубками в среде ЭР [108]. Аналогичный модифицированный электрод, содержащий фермент холиноксидазу, был изготовлен в ЭР (хлорид холина/этиленгликоль 1/2) и использован для определения фосфорорганических пестицидов в объектах окружающей среды [109]. В

другом исследовании было представлено получение полимеров полиметиленового синего с различной наноструктурной морфологией с использованием того же ЭР [110]. Показано, что материал полиметиленового голубого, полученный при скорости полимеризационного сканирования 150 мВс^{-1} , при перемешивании образует наноструктурированные, упорядоченные и зернистые пленки с отличными электрохимическими свойствами. Эти сенсоры также использовались для определения аскорбиновой кислоты.

Для расширения аналитических возможностей этого электрода в другой работе он был модифицирован углеродными нанотрубками и использован для определения аскорбиновой кислоты в лекарственных препаратах [111]. Для определения тяжелых металлов, таких как ртуть, кадмий, свинец и хром в объектах окружающей среды, был изготовлен электрод, модифицированный за счет иммобилизации глюкозооксидазы на стеклоуглероде после электрохимической полимеризации поли(бриллиантового зеленого) в ЭР (хлорид холина/этиленгликоль 1/2) [112].

ЭР, благодаря их хорошему растворению соединений металлов, зарекомендовали себя как среда для модификации электродов путем осаждения металлов и получения нанокompозитов на их поверхности. Наибольшее распространение для этой задачи нашли соединения никеля. Так, стеклоуглеродный электрод модифицировали путем прямого электрохимического осаждения на его поверхность наночастиц никеля из ЭР (хлорид холина/мочевина 1/2) [113]. В этой же работе были детально изучены механизмы образования и оптимизированы условия формирования полученных наночастиц. Также был представлен другой вариант получения нанокompозитов никеля и их использования в качестве модификаторов электродов для определения глюкозы [114]. Наностержни оксида кобальт-никеля, модифицированные наночастицами дисульфида молибдена ($\text{NiCo}_2\text{O}_4\text{-MoS}_2$) в качестве нанокompозитного материала, были синтезированы методом простого ионотермического синтеза в ЭР (хлорид холина/мочевина 1/2), после чего из данного материала был получен сенсор для определения глюкозы. Для

реализации фармацевтического анализа наноструктуры никеля электроосадили на поверхность никелевого электрода из ЭР (хлорид холина/мочевина) в гальваностатических условиях и использовали в качестве среды для определения симвастатина в лекарственных препаратах [115]. Для определения содержания L-карнитина был предложен композитный Ni-Cu электрод, полученный в среде ЭР (хлорид холина/этиленгликоль 1/2) [116]. Кроме никеля и композитов на его основе соединения золота нашли применение для модификации электродов в среде ЭР. Например, сенсор для определения глюкозы был изготовлен путем функционализации поверхности диоксида кремния, модифицированной с помощью наночастиц золота (AuNP) [117]. Оптимизированные условия электрохимической модификации нанопористых золотых электродов представляют собой легирование и получение композита Au-Zn в ЭР $ZnCl_2$ /мочевина. Эти электроды были успешно использованы для определения ртути (II), нитробензола и гидразина в сточных водах.

Осаждение марганца на поверхности вращающегося дискового электрода в среде ЭР, описанное в работе [118], в настоящее время не имеет явного аналитического применения, но потенциально эта система может быть использована в электроаналитической химии.

Другой вариант модификации электродов заключается в использовании ЭР не в качестве среды для изменения морфологии поверхности электродов, как в предыдущих примерах, а в виде смеси с углеродными нанокompозитами, наносимой непосредственно на поверхность электрода в виде пленки [119]. Такие электроды показали хорошие аналитические характеристики для определения нитрит-ионов. Однако в данной работе возникают вопросы с точки зрения стабильности полученных пленок на поверхности электрода, так как используемый ЭР хлорид холина/мочевина растворим в воде и при контакте с водным образцом начинает разлагаться за счет растворения компонентов в пробе.

Другими областями применения ЭР в электроаналитике являются их использование в качестве экстрагентов перед электрохимическим анализом, и в качестве добавок в фоновый электролит для создания электрохимических сенсоров и для изучения электрохимических процессов или электрохимических свойств минералов без их сложной пробоподготовки [120]. Например, для экстракции кверцетина в качестве экстрагента использовали ЭР хлорид холина/мочевина [121] с последующим анализом экстракта методом дифференциальной импульсной вольтамперометрии. Также, для выделения кверцетина использовали ЭР на основе глюкозы и лимонной кислоты [122]. Авторы последней работы продемонстрировали возможность использования ЭР не только в качестве экстрагента, но и в качестве добавки в фоновый электролит для определения кверцетина в сложной матрице (Таблица 2).

В качестве примеров использования ЭР при разработке электрохимических сенсоров можно привести работы по определению SO_2 [123], 2-метил-1,3,5-тринитробензола [124] и кислорода в воздухе [125]. Во всех этих работах авторы использовали ЭР и в качестве экстрагента и в качестве среды для электрохимических реакций.

Адсорбция газов, особенно углекислого, является актуальной темой, в области которой ЭР также нашли широкое применение (Таблица 3). Использование ЭР для получения материалов, способных эффективно поглощать CO_2 и другие кислые газы является многообещающим с точки зрения эффективности и устойчивости. В литературе уже имеется достаточно много информации о поглощении таких соединений, как CO_2 [126], SO_2 [127], NH_3 [128] и летучих органических соединений [129] с помощью ЭР. Однако большинство работ в этой области направлено именно на разработку новых растворителей для поглощения и растворения газов, а не на разработку методик химического анализа. Количество поглощенного газа чаще всего контролировали с помощью селективных газовых датчиков. В качестве компонентов ЭР использовали хлорид холина [130], мочевину [131], глицерин

[132], этиленгликоль, малоновую кислоту, тиомочевину [133], фенилуксусную кислоту [134] и леулиновую кислоту [135]. Большинство авторов использовали наименее вязкие ЭР для увеличения скорости адсорбции газов. Эти работы были направлены на поглощение газов, чаще всего CO₂ из атмосферы, и эти подходы потенциально могут быть использованы для определения концентрации различных газов для реализации химического анализа. Также уже предлагаются технологии по внедрению ЭР в очистительные и фильтрующие установки на технологических производствах для очистки газовых выбросов в атмосферу.

Несмотря на относительно большое количество работ, посвященных изучению ЭР как поглотителей газов, анализ газовых сред с использованием ЭР представлен недостаточно широко. В этом направлении использование ЭР можно подразделить на анализ выдыхаемого воздуха, природного воздуха, воздуха рабочих помещений и различных сред газообразных процессов (горючих газов и промышленных выбросов). В направлении анализа выдыхаемого воздуха ЭР не нашли широкого применения, так как поглотительный раствор должен быть низковязким, а большинство предложенных ЭР, являются высоковязкими смесями. Напротив, стабильность и вязкость ЭР являются полезными характеристиками для пассивного пробоотбора и предварительного концентрирования аналитов при анализе природного, производственного и технологического воздуха.

С точки зрения реализации химического анализа предложены два варианта определения летучих соединений с помощью ЭР. Первый заключается в использовании ЭР в качестве среды для предварительного прямого извлечения аналитов из жидких или твердых проб с последующей термодесорбцией и анализом либо газовой фазы, либо последующей повторной сорбцией аналитов на подходящем сорбенте. Благодаря низкой летучести и термической стабильности ЭР не создают избыточного давления в экстракционном сосуде, что является преимуществом перед летучими органическими растворителями, а также водой. Это позволяет использовать

ЭР в качестве аналогов твердофазных сорбентов, сохраняя при этом их преимущества, в том числе селективность извлечения, высокие скорости извлечения и большую емкость по сравнению с твердофазными сорбентами. Этот подход включает использование ЭР в качестве экстрагентов для извлечения остаточных органических растворителей в лекарственных препаратах с последующей термодесорбцией аналитов и анализом методом ГХ-ПИД [136]. Более детальное изучение протекающих процессов и коэффициентов распределения различных аналитов было представлено в продолжении этой работы [137]. Этот подход был реализован с использованием ЭР, состоящего из хлорида холина и глюкозы (молярное соотношение 1/1) для извлечения и определения летучих компонентов в листьях *Ipomoea Cairica* (L.) Sweet для последующего анализа методом ГХ-МС [138]. В этих примерах образцы гомогенизировали в среде ЭР, нагревали смесь и анализировали газовую фазу. Аналогичный, но двухстадийный процесс был использован в работе [139] для выделения летучих органических соединений (ЛОС) из табака с одновременным выделением их в газовую фазу и сорбцией на твердофазном сорбенте из газовой фазы. В данном случае использовали ЭР из хлорида холина и глицерина для лучшего разрушения клеточных стенок и более полного извлечения аналитов с последующим их выделением в газовую фазу.

Второй подход заключается в нагревании образца для перевода аналитов в газовую фазу и последующей их адсорбцией из газовой фазы непосредственно в ЭР с последующим анализом этой фазы. В этом смысле высокая вязкость ЭР является преимуществом перед использованием водных или органических экстрагентов. Так, для выделения биологически активных терпеноидов из листьев *Chamaecyparis obtusa* в каплю ЭР на основе хлорида холина и этиленгликоля был реализован классический вариант капельной парофазной микроэкстракции [140]. Авторы сравнили эффективность экстракции с использованием *n*-додекана, и ЭР оказался лучше не только по эффективности экстракции, но и по стабильности полученной капли.

Пример парофазной капельной микроэкстракции с использованием ЭР [141] предложен для экстракции ЛОС из образцов вина и мочи в каплю магнитного ЭР, состоящего из хлорида холина и хлорфенола, с добавлением магнитных углеродных нанотрубок, для придания экстрагенту магнитных свойств. Капля растворителя эффективно удерживалась с помощью магнита над поверхностью образца. Этот подход был намного проще с точки зрения реализации, чем обычная капельная парофазная микроэкстракция. Высокая вязкость и термическая стабильность позволяют легко удерживать каплю и проводить с ней дальнейшие процедуры.

Пример применения ЭР для анализа выдыхаемого воздуха описан в работе [142]. В данной работе была продемонстрирована возможность использования гидрофобного ЭР, состоящего из ментола и фенилуксусной кислоты, для определения остатков пестицидов в конденсате выдыхаемого воздуха. При этом пробы воздуха, полученные после конденсации, разбавляли водой для последующего извлечения аналитов методом жидкостной микроэкстракции в ЭР. Таким образом, прямого анализа газовой фазы с применением ЭР в данном примере не проводилось.

Если рассматривать анализ газов с точки зрения разработки газовых сенсоров, то представлено всего несколько работ в этом направлении [125] [123] [59,60]. В одной из этих работ был представлен первый амперометрический датчик, основанный на применении ЭР (хлорид холина/этиленгликоль 1/2) для определения концентрации кислорода [125]. Авторы показали возможность использования ЭР вместо ионных жидкостей в безмембранных электрохимических газовых сенсорах. Они продемонстрировали, что использование ЭР в качестве растворителя, нанесенного на поверхность электродов, весьма перспективно для создания электроаналитических сенсоров для обнаружения газообразных аналитов. Это связано с тем, что ЭР дают возможность сочетать преимущества, обеспечиваемые их высокой электропроводностью, низкой летучестью и простотой приготовления, с преимуществами, связанными с их адгезией к

электродным материалам для сборки безмембранных амперометрических устройств. Однако недостатком применения ЭР в данном направлении является их низкие коэффициенты диффузии, что приводит к снижению чувствительности. Этот недостаток можно минимизировать путем создания тонких слоев ЭР. Аналогичная система была использована для адсорбции диоксида серы из атмосферы в эвтектический растворитель на основе хлорида холина и этиленгликоля [143] с последующим анализом методом циклической вольтамперометрии.

Таким образом, можно сделать вывод, что ЭР являются перспективными растворителями для сорбции летучих аналитов, а также в сенсорных системах контроля качества газовых сред. В данном случае высокая вязкость ЭР является их преимуществом, позволяющим использовать их в качестве переходного звена между жидкими экстрагентами (обладающими высокими скоростями сорбции и большой поглотительной способностью) и твердофазными сорбентами (более простыми в применении и термостабильными, чем жидкости). Таким образом, ЭР сочетают в себе преимущества как жидких экстрагентов, так и твердофазных сорбентов. Кроме того, их можно использовать в качестве эффективных модификаторов электродов для повышения селективности или для накопления аналитов на их поверхности с целью снижения пределов обнаружения. Другим направлением использования ЭР, пока не отраженным в литературе, может быть их использование в качестве экстрагентов для пассивного пробоотбора.

Высокая растворяющая способность широкого круга веществ и термическая стабильность привели к тому, что ЭР нашли применение в синтезе различных материалов. В области аналитической химии это направление включает использование ЭР в качестве среды для синтеза материалов, и на использование ЭР в качестве модификаторов уже готовых материалов.

При синтезе полимеров с молекулярными отпечатками (МИП) [144] ЭР может быть включен в сам полимер. Это приводит к получению более

гидрофильных материалов, что позволяет более эффективно использовать их при анализе водных растворов. Традиционно полимеризационная смесь для получения МИП содержит функциональный мономер, сшивающий агент, матрицу и инициатор, растворенные в подходящем растворителе. Как правило, в качестве реакционной среды используют гидрофобные растворители, что приводит к трудностям в использовании полученных сорбентов с обычно анализируемыми водными образцами. Для решения этой проблемы были предложены МИП на основе формальдегида и гидрофильных смол, богатых поверхностными полярными группами. Было обнаружено, что замена полярных органических растворителей на ЭР из хлорида холина и этиленгликоля (мольное соотношение 1/2) обеспечивает существенное улучшение адсорбционной способности получаемых полимеров [145]. Это можно объяснить лучшим образованием водородных связей между функциональным мономером и матрицей в ЭР. Более того, ЭР могут действовать как вспомогательные функциональные мономеры, связанные ковалентно или посредством водородных связей с полимером, предоставляя больше функциональных групп для селективного связывания аналитов [146]. Другое направление заключается в синтезе тройных ЭР, содержащих шаблон в качестве дополнительного донора водородных связей, что позволяет получать МИП для малорастворимых веществ [147]. Также, летучие органические растворители, используемые в качестве порообразователя, могут быть заменены на ЭР. Для разделения белков [148] были успешно приготовлены монолитные колонки с молекулярным отпечатком в среде смеси ЭР (хлорид холина/этиленгликоль 1/2) – вода.

В качестве неорганических сорбентов в последнее время наибольший интерес вызывают магнитные наночастицы. Их преимущества заключаются в большой площади поверхности и сорбционной емкости, а также в легком и быстром отделении сорбентов от пробы с помощью приложения внешнего магнитного поля. В литературе предложены магнитные наночастицы оксида графена, покрытые ЭР, для выделения метадона из биологических образцов и

образцов воды [149]. Нанесение покрытия осуществляли перемешиванием суспензии МНЧ в ЭР (хлорид холина/фенол, глицерин или 5,6,7,8-тетрагидро-5,5,8,8-тетраметилнафталин-2-ол) с последующей промывкой и сушкой. Так как многие ЭР обладают хелатными свойствами по отношению к металлам, то данная особенность была использована для покрытия МНЧ Fe_3O_4 путем одновременного смешивания частиц и гидрофильного ЭР (хлорид холина/глицерин, шавелевая кислота или мочевины 1/2) для экстракции $Pb(II)$ и $Cd(II)$ [150]. МНЧ также можно эффективно суспендировать в ЭР из-за их относительно высокой вязкости, что приводит к образованию магнитных жидкостей, которые могут в дальнейшем быть использованы для извлечения аналитов. В литературе также представлены материалы на основе кремнезема, модифицированные ЭР. Предложено покрытие диоксида кремния с помощью ЭР на основе хлорида холина/мочевины для сорбции феруловой кислоты [151].

Новые возможности ЭР находят в области хроматографического анализа [152]. Этому направлению посвящен ряд обзоров. В предложенных работах ЭР в основном используются для модификации существующих стационарных фаз [153], в качестве добавки к подвижным фазам [154] и в качестве среды для синтеза неподвижных фаз [155]. Однако большинство ЭР разлагаются в воде, которая часто входит в состав подвижных фаз. Таким образом, ЭР просто смываются элюентом, не влияя на процессы хроматографического разделения при использовании их для модификации неподвижных фаз. В этом направлении, однако, оправдано использование гидрофильных ЭР в качестве модификаторов с гидрофобными подвижными фазами и наоборот. Устойчивая тонкая пленка подобных ЭР на поверхности сорбента может оказывать существенное влияние на хроматографическое разделение аналитов.

Высокая вязкость ЭР в настоящее время не позволяет использовать их в качестве подвижной фазы в хроматографии, что приводит к их использованию в качестве добавки в элюент. Однако высокое содержание воды также может

приводить к разложению ЭР и получению водного раствора их прекурсоров, что может как положительно, так и отрицательно влиять на эффективность хроматографического процесса. Важно отметить, что такие эффекты связаны не с ЭР, а с водным раствором их компонентов. Эти области применения ЭР еще не привели к значительным улучшениям в хроматографическом разделении. Основные успехи в области хроматографии пока были достигнуты только в разработке методик синтеза неподвижных фаз, где ЭР использовались как в качестве растворителей для модификации силикагелей [156], так и в качестве порообразователей для создания неподвижных фаз для эксклюзионной хроматографии [157]. В этом случае высокая вязкость ЭР способствует созданию стабильной дисперсии силикагеля по сравнению с органическими растворителями и предотвращает агрегацию частиц, что приводит к более эффективной модификации. Также в литературе появляются работы по использованию ЭР в качестве стационарных фаз в газовой хроматографии. Это область будущих интересов, поскольку многие ЭР являются термически стабильными соединениями. Однако такое их использование может быть ограничено тем, что высокие температуры приведут к ослаблению водородных связей и разрушению исходной структуры эвтектического растворителя [158] [159].

Помимо применения в качестве растворителей, эвтектические растворители потенциально могут быть эффективно использованы для минерализации проб в качестве аналога агрессивных окислительных смесей, например, на основе концентрированной азотной кислоты и пероксида водорода. При этом ЭР можно использовать для разложения образцов как с применением микроволнового излучения, так и без него. Замена окисляющих смесей на ЭР позволяет значительно упростить разложение проб, поскольку, во-первых, такие свойства ЭР, как низкое давление насыщенных паров и большая экологическая безопасность, позволяют отказаться от использования специального оборудования для предотвращения испарения окислителей. Во-вторых, высокая термическая стабильность ЭР позволяет использовать

высокие температуры, что значительно ускоряет процедуру пробоподготовки. При этом ЭР способны разлагать как растительные образцы (богатые лигнином и целлюлозой) для извлечения аналитов, так и животные, растворяя жиры и белки. Это позволит в будущем разработать подходы для быстрого и экологически безопасного разложения образцов различного состава без применения агрессивных растворителей (Таблица 4.).

В литературе предложено несколько примеров использования ЭР в качестве среды для разложения образцов. Например, предложены процедуры для определения Cu, Zn и Fe с помощью пламенной атомно-абсорбционной спектроскопии [160], Cu, Fe, Ni и Zn с помощью ИСП-ОЭС [161]. As, Cr, Mo, Sb, Se и V в сельскохозяйственных почвах [162], As, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P и Zn в растениях [163], Cd в рисовой муке [164] и полициклических ароматических углеводородов в биологических образцах [165]. На стадии экстракции применялось различное оборудование, такое как нагревательные устройства [160] и микроволновая печь [161]. Большинство авторов сравнили предложенные ими методики с существующими аналогами, использующими азотную кислоту и перекись водорода, и подтвердили схожесть получаемых результатов. Это может свидетельствовать о том, что данное направление является перспективным в области пробоподготовки и будет развиваться в ближайшем будущем.

ЭР могут выступать не только в качестве экстрагентов, но и как среда для дериватизации аналитов. При этом могут быть реализованы два подхода.

Первый подход предполагает растворение агента для дериватизации непосредственно в ЭР после его изготовления перед проведением анализа. Так, для одновременной дериватизации и микроэкстракционного извлечения ароматических аминов был использован ЭР состоящий из холина хлорида и масляной кислоты. Предварительно в нем растворяли этилхлорформиат, который выступал в качестве реагента для дериватизации [166].

В работе [167] был предложен способ анализа конденсата выдыхаемого воздуха методом ГХ-МС для определения в нем сальбутамола. В

предложенном способе в качестве реагента для дериватизации использовали 1-фтор-2,4-динитробензол а в качестве экстрагента ЭР на основе хлорид N,N-диэтилэтаноламмония/дихлоруксусной кислоты/октановой кислоты.

ЭР состоящий из 8-гидроксихинолина и пиваловой кислоты в котором был растворен хлорацетилхлорид использовался в качестве экстракционной системы для дериватизации и извлечения производных фенола [168]. Для определения содержания морфина и оксиморфона в выдыхаемом воздухе был использован ЭР, состоящий из холина хлорида, ментола и уксусной кислоты в качестве экстрагента, а также бутлихлорформиат и пиколин в качестве реагентов для дериватизации [169]. В работе [170] авторы использовали метод экстракции на поверхности магнитной мешалки в сочетании с дисперсионной жидкостной микроэкстракцией для определения пестицидов методом ГХ-МС. В предложенной процедуре аналиты первоначально абсорбируются на поверхности мешалки, затем их элюируют с поверхности используя гидрофильный ЭР (холин хлорид/этиленгликоль 1/2). Затем к полученному элюату добавляют бутилхлорформиат и пиколин в качестве реагентов для дериватизации и гидрофобный ЭР (холин хлорид/п-хлорфенол) в качестве экстрагента. В работе [171] была предложена процедура дисперсионной жидкостной микроэкстракции для определения пяти короткоцепочечных жирных кислот в различных образцах напитков методом ГХ-ПВД. В этом способе в качестве реагента для дериватизации использовали бутанол-2, а в качестве экстрагента – ЭР, состоящий из этилметиламмония хлорида и карвакрола.

Второй вариант дериватизации в присутствии ЭР основан на участии одного из компонентов ЭР в качестве агента для дериватизации. В работе [172] для этого был изготовлен и использован ЭР на основе холина хлорида и 4-метилфенола. В таком варианте холин использовался не только как компонент ЭР, но также как агент для дериватизации карбоновых кислот в форму эфиров для их извлечения из водной фазы для последующего их анализом методом ГХ-МС. Для элементного анализа предложена процедура определения общего

железа в пробах воды, в которой ЭР выступает как агент для восстановления железа для его последующего взаимодействия с о-фенантролином и извлечения полученного комплекса в ЭР на основе тимола и жирных кислот [173]. В данном случае тимол выступает не столько как агент для дериватизации, сколько как восстановитель.

Таким образом можно сделать вывод, что ЭР находят широкое применение во многих областях аналитической химии от пробоподготовки до синтеза сорбентов и изготовления сенсоров. Однако наибольшее распространение они получили как экстрагенты для извлечения как полярных, так и неполярных аналитов, в первую очередь в микроэкстракционных методах. При этом нерешенной задачей остается изучение устойчивости самих ЭР при контакте с пробами и механизмов экстракции [174].

Таблица 2 – Примеры применения ЭР в электрохимическом анализе

Акцептор водородной связи	Донор водородной связи (молярное соотношение)	Применение ЭР	Образец	Аналиты	Метод анализа	Ссылка
Холина хлорид	Этиленгликоль (1:2) Мочевина (1:2) Глицерин (1:2)	Электрополимеризация 3,4-этилендиокситиофена на поверхности электрода	Модельный раствор	Аскорбат ион	Амперометрия	[106]
Холина хлорид	Этиленгликоль (1:2) Мочевина (1:2) Глицерин (1:2)	Электроосаждение проводящего полимера (3,4-этилендиокситиофена) на поверхность электрода	Модельный раствор	Аскорбиновая кислота, дофамин и мочевая кислота	Циклическая вольтамперометрия	[107]
Холина хлорид	Этиленгликоль (1:2)	Электрополимеризация бриллиантового крезилового синего на поверхности электрода	Модельный раствор	Глюкоза и катехол	Амперометрия	[108]
Холина хлорид	Этиленгликоль (1:2)	Электрополимеризация бриллиантового крезилового синего на поверхности электрода	Напитки	Дихлофос	Амперометрия	[109]
Холина хлорид	Этиленгликоль (1:2)	Электрополимеризация метиленового синего на поверхности электрода	Модельный раствор	Аскорбат ион	Амперометрия	[110]
Холина хлорид	Этиленгликоль (1:2)	Электрополимеризация метиленового синего на поверхности электрода	Фармацевтический продукт	Аскорбат ион	Амперометрия	[111]
Холина хлорид	Этиленгликоль (1:2)	Электрополимеризация зеленого бриллианта на поверхности электрода	Молоко	Hg, Cd, Pb и Cr	Амперометрия	[112]
Холина хлорид	Мочевина (1:2)	Электрохимический синтез наночастиц никеля на стеклоуглеродном электроде	-	-	-	[113]

Продолжение таблицы

Акцептор водородной связи	Донор водородной связи (мольное соотношение)	Применение ЭР	Образец	Аналиты	Метод анализа	Ссылка
Холина хлорид	Мочевина (1:2)	Ионотермический синтез наностержней оксида кобальт-никеля, декорированных наночастицами дисульфида молибдена в эвтектических растворителях	Красное вино и мед	Глюкоза	Амперометрия	[114]
Холина хлорид	Мочевина (1:2)	Электроосаждение наноструктуры никеля в эвтектических растворителях	Фармацевтический продукт	Симвастатин	Амперометрия	[115]
Холина хлорид	Этиленгликоль (1:2)	Процесс анодирования непосредственно на электродах из сплава Ni/Cu в эвтектических растворителях	Фармацевтический продукт	л-карнитин	Амперометрия	[116]
ZnCl ₂	Мочевина (1:3,5)	Электрохимическое получение нанопористого золота ЭлектроЭР в эвтектических растворителях	Сточные воды	Ртуть (II), нитробензол и гидразин	Циклическая вольтамперометрия	[117]
Холина хлорид	Мочевина (1:2)	Электроосаждение тонких пленок марганца на вращающемся дисковом электроде в эвтектических растворителях	-	-	-	[118]
Холина хлорид	Этиленгликоль (1:2)	Электроосаждение Ti/SnO ₂ -Sb в эвтектических растворителях	-	-	-	[175]
Холина хлорид	Мочевина (1:2)	Функционализация многостенных углеродных нанотрубок и графен в эвтектических растворителях	Вода	Нитрит ион	Амперометрия	[119]

Продолжение таблицы

Акцептор водородной связи	Донор водородной связи (молярное соотношение)	Применение ЭР	Образец	Аналиты	Метод анализа	Ссылка
Холина хлорид	Мочевина (1:2)	ЭР как экстрагент	Модельный раствор	Кверцетин	Дифференциальная импульсная вольтамперометрия	[121]
Лимонная кислота, Молочная кислота	Фруктоза, вода (1:1:2) Глюкоза, вода (1:1:2) Глюкоза, вода (5:1:3)	ЭР как экстрагент	Пищевой продукт	Кверцетин	Вольтамперометрия	[122]

Таблица 3 – Примеры применения ЭР для сорбции газообразных аналитов

Акцептор водородной связи	Донор водородной связи (мольное соотношение)	Аналиты	Метод анализа	Ссылка
Тетрабутиламмоний хлорид	Декановая кислота (1:2) L-молочная кислота (1:2)	CO ₂	Гравиметрия	[126]
Холина хлорид	Гуаякол (3:1, 4:1, 5:1) Карданол (3:1, 4:1, 5:1)	SO ₂	Гравиметрия	[127]
1-бутил-3-метилимидазолий метансульфонат	Мочевина (1:1)	NH ₃	Манометрическое давление пара	[128]
Холина хлорид и тетрабутилфосфоний бромид	Мочевина (1:2) Этиленгликоль (1:2) Глицерин (1:2, 1:1) Левулиновая кислота (1:2, 1:6) Декановая кислота (1:2)	Толуол, ацетальдегид и дихлорметан	ГХ-ПИД	[129]
Холина хлорид	Мочевина (1:2) Этиленгликоль (1:2) Яблочная кислота (1,3:1)	CO ₂	Манометрическое давление пара	[130]
Холина хлорид	Мочевина (1:2)	CO ₂	Гравиметрия	[131]
Холина хлорид	Глицерин (1:2)	CO ₂	ИК-датчик газа	[132]
Холина хлорид	Этиленгликоль (1:2) Малоновая кислота (1:1) Мочевина (1:2) Тиомочевина (1:1)	SO ₂	Гравиметрия	[133]
Холина хлорид	Фенилуксусная кислота (1:2)	CO ₂	Теория функционала плотности и классические методы молекулярной динамики	[134]

Продолжение таблицы

Акцептор водородной связи	Донор водородной связи (мольное соотношение)	Аналиты	Метод анализа	Ссылка
Холина хлорид	Левулиновая кислота (1:3, 1:4, 1:5) Фурфуриловый спирт (1:3, 1:4, 1:5)	CO ₂	Метод изохорного насыщения	[135]
Холина хлорид	Сахароза (2:1, 1:1, 1:2) D(+)-глюкоза (2:1, 1:1, 1:2) Лимонная кислота (2:1, 1:1, 1:2) Этиленгликоль (2:1, 1:1, 1:2) 1,4-бутандиол (2:1, 1:1, 1:2) DL-молочная кислота (2:1, 1:1, 1:2) D-винная кислота (2:1, 1:1, 1:2) Аскорбиновая кислота (2:1, 1:1, 1:2) D-(+)-ксилоза (2:1, 1:1, 1:2) Глицерин (2:1, 1:1, 1:2) Левулиновая кислота(2:1, 1:1, 1:2)	Этанол, изопропанол, н-бутанол, 1,4-диоксан, тетрагидрофуран, ацетонитрил, метанол и ацетон.	ГХ-ПИД	[136]
Холина хлорид	Глицерин (1:2) Левулиновая кислота (1:2) Лимонная кислота (2:1) D-молочная кислота (1:2) Глюкоза (2:1) Мочевина (1:2) Этиленгликоль (1:2) D-винная кислота (2:1)	Ацетон, тетрагидрофуран, изопропанол, н-бутанол, н-гексан, 1,2-дихлорэтан, 1,1,2-трихлорэтилен, трихлорметан, 1,1,1-трихлорэтан, 1,4-диоксан, циклогексан, ацетонитрил.	ГХ-ПИД	[137]
Холина хлорид	Лимонная кислота (1:1) Глюкоза (1:1) Мальтоза (1:1) Левулиновая кислота (1:2) 1,4-бутандиол (1:2) Фруктоза (2:1)	Более 100 летучих компонентов	ГХ-МС	[138]

Продолжение таблицы

Акцептор водородной связи	Донор водородной связи (мольное соотношение)	Аналиты	Метод анализа	Ссылка
Холина хлорид Капролактам	Этиленгликоль (1:2, 1:3) Мочевина (1:2, 1:3, 2:1, 3:1)	65 летучих компонентов	ГХ-МС	[139]
Холина хлорид	Этиленгликоль (1:2, 1:3, 1:4, 1:5)	Линалоол, α -терпинеол и терпинилацетат	ГХ-МС	[140]
Холина хлорид	Фенол (1:2) Хлорофенол (1:2) Резорцин (1:2)	Бензол, толуол, этилбензол, м-, п- и о-ксилол.	ГХ-ПИД	[141]
Ментол	Фенилуксусная кислота (3:1)	Диазинон, прометрин, тербутрин, бифентрин, фенпропатрин, бромпропилат, фенамифоссульфон, фосалон, фенвалерат и дельтаметрин.	ГХ-МС	[142]
Холина хлорид	Этиленгликоль (1:2)	O ₂	Циклическая вольтамперометрия и амперометрия	[125]
Холина хлорид	Этиленгликоль (1:2)	SO ₂	Циклическая вольтамперометрия	[123]
ГХ-ПИД – газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектором, ИК – инфракрасная спектроскопия, ГХ-МС – газовая хроматография–масс-спектрометрия				

Таблица 4 – Примеры применения ЭР для разложения образцов

Акцептор водородной связи	Донор водородной связи (мольное соотношение)	Образец	Аналиты	Метод анализа	Ссылка
Холина хлорид	Щавелевая кислота (1:2)	Образцы рыбы	Cu, Fe и Zn	П-ААС	[160]
Холина хлорид	Щавелевая кислота (2:1, 1:1, 1:1,5, 1:2, 1:2,5)	Морские биологические образцы	Cu, Fe, Ni и Zn	ИСП-ОЭС	[161]
Холина хлорид	Щавелевая кислота (1:1, 1:1,5, 1:2, 2:1)	Сельскохозяйственная почва	As, Cr, Mo, Sb, Se и V	ИСП-ОЭС	[162]
Лимонная кислота	Ксилит, вода (1:1:10) Яблочная кислота, вода (1:1:10)	Образцы растений	As, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P и Zn	ИСП-ОЭС, ИСП-МС	[163]
Холина хлорид, L-аланин, глицин, L-треонин, L-гистидин	Глицерин, D-(+)-ксилоза, глюкоза, фруктоза, L(-) сорбоза, манноза, D-(+)-галактоза, сахароза, L(+)- арабиноза, L-(+) рамноза, трегалоза, пролин, DL-яблочная кислота, лимонная кислота, L-(+)-винная кислота, ксилит, сорбитол	Рисовая мука	Cd	ЭТААС	[164]
Холина хлорид	Щавелевая кислота (1:1, 1:2, 1:3)	Биологические образцы	Полициклические ароматические углеводороды	ВЭЖХ-ФЛД	[165]

П-ААС – пламенная атомно-абсорбционная спектрометрия, ИСП-ОЭС – Оптико-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, ИСП-МС – масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, ЭТААС – электротермическая атомно-абсорбционная спектрометрия, ВЭЖХ-ФЛД – высоко эффективная жидкостная хроматография-флуоресцентная детекция

1.3. Дисперсионная жидкостная микроэкстракция

Пробоподготовка является важным этапом химического анализа. Процедуры, входящие в этап пробоподготовки, используются для решения задач извлечения аналитов для устранения мешающего влияния матрицы пробы и для концентрирования аналитов для достижения высокой чувствительности [176]. Традиционно используемые методы экстракции требуют больших объемов растворителей, которые часто являются опасными, летучими, токсичными и горючими, и других реагентов и не соответствуют концепции зеленой аналитической химии, активно развиваемой в последнее время [177]. Жидкофазная микроэкстракция представляет собой миниатюрный вариант классической жидкостной экстракции без снижения чувствительности анализа, а также характеризуется минимальным расходом растворителей. В настоящее время предложены различные варианты реализации жидкостной микроэкстракции, которые различаются способами выполнения процесса.

Так, предложены такие методы как: дисперсионная жидкостная микроэкстракция (dispersive liquid-liquid microextraction) [178], капельная микроэкстракция (single drop microextraction) [179], жидкостная микроэкстракция из гомогенного раствора (homogenous liquid-liquid microextraction) [180], мембранная жидкостная микроэкстракция (membrane-based liquid-phase microextraction) [181].

Среди перечисленных методов наибольшее распространение получила дисперсионная жидкостная микроэкстракция (dispersive liquid-liquid microextraction). В 2006 г., Rezaee и соавторы представили новый метод микроэкстракции, названный дисперсионной жидкостной микроэкстракцией (ДЖМЭ) [182]. Данный подход заключается в создании микрокапель акцепторной фазы в донорной фазе для увеличения площади контакта, тем самым увеличивая скорость и сокращая время установления межфазового равновесия. Для этого в пробу вводят смесь экстрагента (не смешивающегося с донорной фазой) и диспергатора (смешивающегося и с донорной и

акцепторной фазы). Диспергатор вызывает образование микроэмульсии, которая обеспечивает быстрое извлечение аналитов, поскольку площадь поверхности контакта фаз чрезвычайно велика. Равновесие достигается почти мгновенно, что является основным преимуществом метода. Смесь центрифугируют, и мелкие капли фазы экстрагента или осаждаются на дне пробирки, или образуют токую пленку на ее поверхности. Данную фазу отбирают микрошприцом и анализируют подходящим аналитическим методом (Рисунок 10).

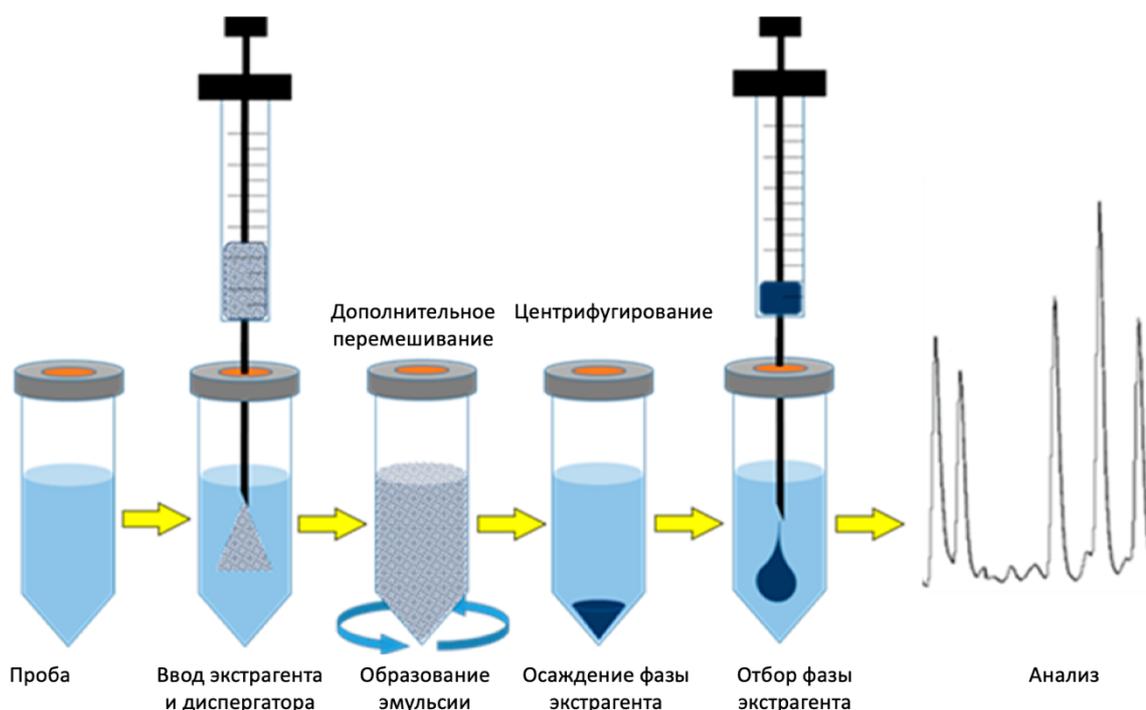


Рисунок 10 – Схематическое изображение дисперсионной жидкостной микроэкстракции [183].

Методы дисперсионной жидкостной микроэкстракции требуют, чтобы экстрагенты и диспергаторы соответствовали ряду критериев. Экстрагент должен иметь значительно отличную плотность по сравнению с плотностью донорной фазы, чтобы обеспечить последующую агломерацию его частиц путем центрифугирования. Кроме того, экстрагент должен иметь ограниченную растворимость в донорной фазе, обеспечивая при этом высокие

значения коэффициентов распределения для аналитов. В настоящее время в качестве экстрагентов при анализе водной фазы используют более плотные, чем вода, растворители, такие как хлорорганические соединения [184], а также более легкие, такие как углеводороды, спирты и карбоновые жирные кислоты. Кроме того, объем экстрагента существенно влияет на эффективность процесса экстракции. Оптимальные значения обычно находятся в диапазоне от 100 до 500 мкл. Отбор фазы экстрагента со дна пробирки производят микрошприцом, а для сбора с поверхности пробы иногда используют вымораживание экстрагента [185], например в случае использования длинноцепочечных спиртов. Ионные жидкости и системы на их основе [186] наряду с молекулярными растворителями активно используются в качестве альтернативы традиционным органическим растворителям для реализации ДЖМЭ. Их возможность регулировать химические и физические свойства путём изменения комбинации аниона и катиона представляет собой значительное преимущество для конкретных приложений микроэкстракции [187]. Микроэкстракция с использованием супрамолекулярных растворителей [188] [189] [190], основанная на образовании мицелл, например декановой кислоты, диспергированных в смеси тетрагидрофурана и воды, является ещё одной важной модификацией ДЖМЭ. В этих методах ТГФ играет двойную роль как диспергирующий растворитель и агент для коацервации мицелл декановой кислоты. В случае анализа органических жидкостей, таких как природные масла или нефтепродукты используют обращенно-фазовый вариант реализации дисперсионной жидкостной микроэкстракции, а в качестве экстрагентов используют полярные растворители, чаще всего воду и водные растворы кислот или оснований [191].

Диспергатор должен смешиваться как с органической, так и с водной фазами, способствуя диспергированию экстрагента в донорной фазе. В качестве диспергаторов обычно используют полярные растворители, такие как метанол, ацетон, изопропиловый спирт и ацетонитрил [192]. Объем диспергирующего растворителя влияет на образование фазы экстрагента и,

следовательно, на эффективность экстракции. Обычно объем диспергатора превышает объем экстрагента в 2-10 раз и составляет от 100 до 1000 мкл.

Эффективность экстракции при реализации процесса ДЖМЭ зависит от ряда факторов, таких как объем экстракционного и диспергирующего растворителей, объем водного образца, температуры и наличие мешающих компонентов или введенных добавок. Температура играет важную роль, причём для большинства примеров предпочтительно использовать комнатную температуру, чтобы предотвратить испарение летучих экстрагентов и диспергаторов. Кроме того, это понижает растворимость аналитов в водной фазе, а также снижает вероятность изменения объемов диспергатора и экстрагента за счет испарения, что приводит к снижению воспроизводимости. Добавление определённых веществ может улучшить эффективность экстракции. Например, добавление солей увеличивает извлечение органических соединений путём снижения их растворимости в водной фазе. Для экстракции неорганических соединений могут быть использованы различные хелатирующие агенты, такие как аммонийный пиридиндитиокарбамат [193] или диэтилдитиокарбамат [194]. Объем водного образца также влияет на эффективность экстракции. Обычно объем водного образца варьируется от 5 до 40 мл. Процесс экстракции в варианте ДЖМЭ происходит почти мгновенно благодаря высокой площади поверхности микрокапель экстрагента, что позволяет достичь равновесия между фазами за короткое время. Таким образом, время экстракции не является критическим параметром и обычно составляет не более 1 мин. Однако центрифугирование является необходимым этапом для осаждения микрокапель экстрагента. Скорость центрифугирования варьируется от 1000 до 6000 об/мин. Время центрифугирования обычно составляет 2-3 мин. Другие параметры, такие как pH водного образца, также могут влиять на эффективность экстракции. Например, для экстракции ионизируемых соединений необходимо регулировать pH образца для улучшения их

извлечения в органическую фазу. В некоторых случаях может потребоваться добавление буферных растворов для поддержания стабильного значения pH.

Одним из главных преимуществ ДЖМЭ является её высокая скорость и эффективность. Экстракция происходит почти мгновенно благодаря высокой площади поверхности микрокапель, что позволяет достичь равновесия между фазами за короткое время. Кроме того, ДЖМЭ требует значительно меньших объёмов органических растворителей по сравнению с традиционными методами экстракции, что делает её более экологически безопасной и экономически выгодной.

ДЖМЭ применяется для анализа природных объектов, таких как почвы [195], воздух [196], природная вода [197], а также данный метод применяется в анализе биологических образцов, таких как моча [198], сыворотка [199], плазма [200], кровь, слюна и ткани. Эти матрицы часто содержат сложные смеси компонентов, что делает метод ДЖМЭ идеальным методом для концентрирования аналитов перед их дальнейшим анализом. Данный метод нашел применение и в пищевой промышленности для определения различных компонентов в продуктах питания и напитках. Метод позволяет эффективно экстрагировать пестициды, антиоксиданты, витамины, гормоны, афлатоксины, микотоксины, красители и другие биологически активные вещества из сложных пищевых матриц. ДЖМЭ широко используется в фармацевтической химии для определения лекарственных веществ и их метаболитов в различных матрицах. Данный подход позволяет эффективно извлекать и концентрировать аналиты перед их дальнейшим анализом с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии, газовой хроматографии и масс-спектрометрии. Метод ДЖМЭ также нашел применение в анализе косметических и текстильных продуктов для определения различных загрязнителей и активных компонентов.

Таким образом, можно сделать вывод, что метод дисперсионной жидкостной микроэкстракции является перспективным и активно применяемым для решения разнообразных задач аналитической химии при

определении органических так и неорганических аналитов различными методами. Дисперсионная жидкостная микроэкстракция представляет собой мощный инструмент в арсенале аналитической химии, который продолжает развиваться и адаптироваться к новым требованиям аналитических задач. Высокая скорость, низкая стоимость и экологическая безопасность делают ДЖМЭ важным и перспективным методом для современных аналитиков и специалистов в области аналитической практики. Однако ДЖМЭ имеет и ограничения. Главным его недостатком является необходимость использования летучих токсичных органических растворителей и в качестве экстрагентов, и в качестве диспергаторов. Использование полярных диспергаторов, с одной стороны, увеличивает площадь массопереноса, что уменьшает время наступления равновесия, но также может негативно повлиять на коэффициенты распределения аналитов, за счет повышения растворимости аналитов в донорной фазе, что приведет к снижению степени извлечения.

Для устранения этого недостатка дисперсионной микроэкстракции были предложены различные варианты данного процесса без использования диспергатора, но с сохранением основных преимуществ с точки зрения минимального объема используемого экстрагента и скорости наступления равновесия.

Так, были предложены альтернативные методы дисперсионной микроэкстракции, такие как диспергирование с помощью газа, который или генерируется внутри пробы, например, за счет реакции карбонатов с кислотами с выделением углекислого газа [201], или за счет быстрого аспирирования пробы и экстрагента вместе с воздухом в шприц для интенсивного перемешивания фаз [202]. Второй подход включает многократный отбор экстракционной смеси в шприц и повторную инъекцию во флакон для образования микроэмульсии.

Также используют обработку пробы и экстрагента ультразвуком, что часто применяют в совокупности с извлечением аналитов из твердых проб

[203]. Негативной составляющей использования ультразвука может быть нагрев образца, что приведет к потере термически нестабильных анализов или летучих экстрагентов. Также для диспергирования экстрагента можно использовать лабораторий вортекс, что позволяет быстро создать эмульсию экстрагента, однако этот метод не поддается автоматизации и лимитирован с точки зрения используемых объёмов пробы [204].

Использование поверхностно-активных веществ также может существенно повысить эффективность экстракции [205]. В методе, известном как поверхностно-активная дисперсионная жидкостная микроэкстракция, ПАВ добавляются для улучшения образования эмульсии и увеличения степени извлечения анализов [206]. В некоторых подходах описано использование ПАВ вместо диспергирующего растворителя, что позволяет исключить использование дополнительных органических растворителей [207] [208].

Все перечисленные варианты дисперсионной жидкостной микроэкстракции с диспергированием экстрагента являются высокоэффективными с точки зрения минимизации расхода растворителя и времени проведения экстракции, однако они требуют применения дополнительных реагентов в качестве диспергаторов или использования дополнительного оборудования для создания микроэмульсий [209]. Пример использования дисперсионной жидкостной микроэкстракции в химическом анализе приведены в Таблице 5.

Еще одним важным достижением в микроэкстракционных методах является использование мембран. Данные подходы позволяют применять пористую структуру твердых мембран для отделения макрокомпонентов пробы для диффузии анализов внутрь мембраны. В основном реализуются как двухфазные, так и трёхфазные системы мембранной микроэкстракции [210]. В двухфазном варианте при анализе водной пробы гидрофобный экстрагент (или акцепторная фаза) пропитывает проницаемую гидрофобную мембрану. Данная модифицированная мембрана помещается в раствор пробы и аналиты

диффундируют в экстрагент через поры мембраны. Такой подход позволяет использовать минимальный объем экстрагента с получением высокой площади контакта с донорной фазой без необходимости образования микроэмульсии экстрагента и последующего центрифугирования двухфазной системы, а значит существенно упрощает процедуру анализа. Также отсутствует необходимость использования диспергаторов, что повышает эффективность экстракции. Аналит можно детектировать непосредственно на поверхности мембраны, например при использовании спектральных методов или элюировании из пор подходящим растворителем для последующего хроматографического или электрохимического анализа (Рисунок 11).

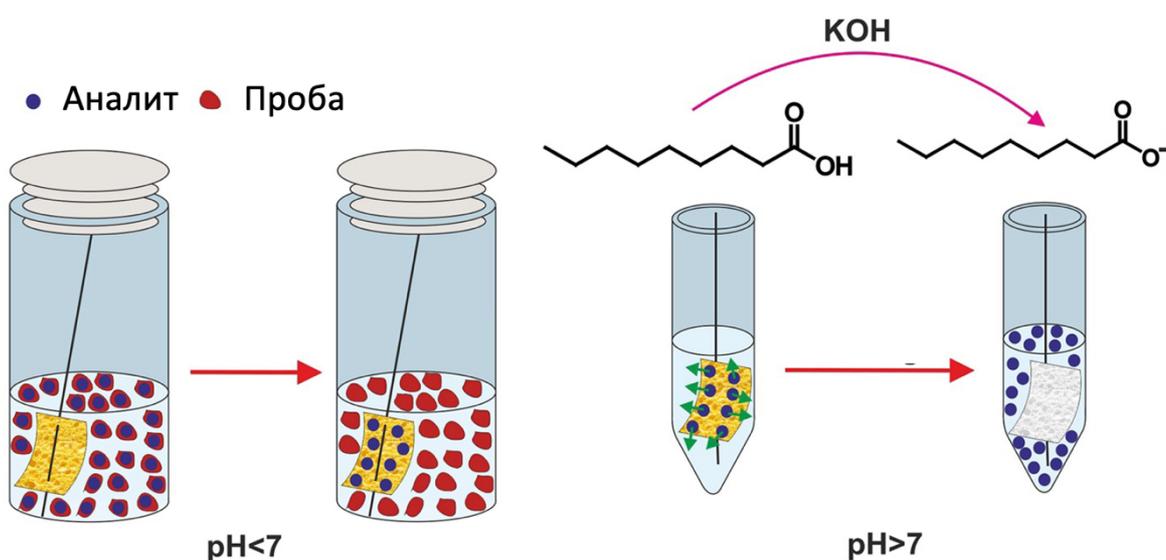


Рисунок 11 – Схематическое изображение мембранной микроэкстракции с использованием растворителей с переключаемой полярностью [211]

Трехфазный метод мембранной микроэкстракции заключается в использовании двух водных фаз – донорной и акцепторной, разделанных мембраной, пропитанной фазой органического растворителя, который не

смешивается с обеими водными фазами. В данном случае аналит из донорной фазы диффундирует через пропитанную мембрану в акцепторную фазу, чаще всего под действием градиента рН. Эта система обычно используется для выделения ионизируемых соединений с использованием кислотных, щелочных или буферных растворов в качестве акцепторных фаз. В качестве экстрагентов для модификации мембран обычно используют неполярные органические растворители, такие как углеводороды. Другой активно развиваемый метод мембранный микроэкстракции заключается в использовании полых волокон, которые насыщаются подходящим экстрагентом и помещаются в донорный раствор пробы. Несмотря на то, что мембранная жидкофазная микроэкстракция является эффективным методом, продолжительность процесса экстракции из-за медленной диффузии аналитов через мембрану остается лимитирующим фактором применения данного подхода. Для решения данной проблемы, были разработаны способы интенсификации массообмена. Они заключаются в модификации поверхностей вращающихся устройств с помощью полимерных материалов, которые пропитываются соответствующими экстрагентами (Рисунок 13). В данном направлении наибольшую популярность получили методы с применением модифицированных магнитных мешалок и вращающихся дисков. В обоих случаях поверхность вращающегося устройства покрыта соответствующей мембранной в порах которой удерживается экстрагент. Таким образом, устройство за счет вращения интенсифицирует процесс массообмена и служит носителем экстрагента. Детектирование аналитов также возможно на поверхности диска или после их элюирования подходящим растворителем [212].

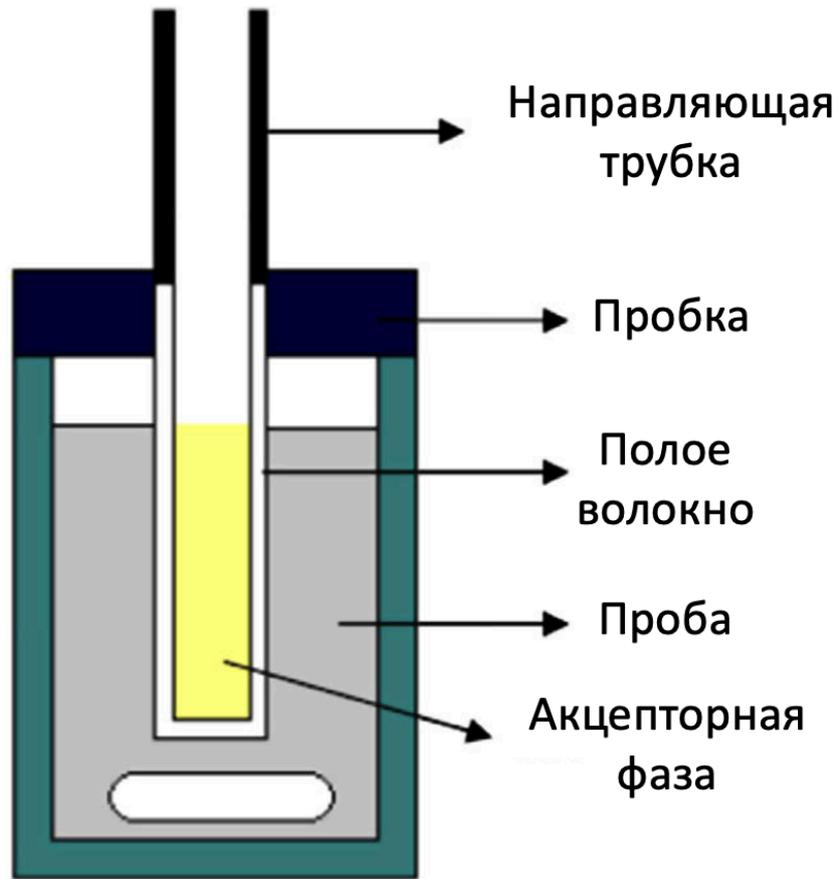


Рисунок 12 – Схематическое изображение жидкофазной трехкомпонентной микроэкстракции с использованием полых волокон [213]



Рисунок 13 – Схематическое изображение жидкостной микроэкстракции с использованием вращающегося диска [212]

Таблица 5 – Пример использования дисперсионной жидкостной микроэкстракции в химическом анализе

Образец	Аналит(ы)	Экстрагент (мкл)	Диспергатор (мкл)	Объем пробы	ПО, мкг/л	Метод анализа	Ссылка
Моча	Фенпропорекс, диэтилпропион, сибутрамин	Дихлорметан (300)	Метанол (1000)	5	0,1-0,05	ГХ-МС	[214]
Пищевые продукты	Бензойная, сорбиновая, дегидроуксусная кислоты, четыре парабена	Хлороформ (50)	Ацетон (500)	4	150-500	ГХ-МС	[215]
Почва	бутил-, фенил-, октилолово	Тетрахлорэтилен (34)	Метанол (413)	10	0,003-0,01	ГХ-ИПФД	[216]
Пищевые продукты	Глифосат	Дихлорметан (200)	Ацетонитрил (800)	20	210	Спектрофотометрия	[217]
Вода	Ванадий	1-Ундеканол (80)	Ацетон (200)	25	0,07	ЭТААС	[218]
Моча	Бисфенол А Бисфенол S, Бисфенол F, Бисфенол Z, Бисфенол P, Бисфенол AF, Бисфенол AP	1,2-Дихлорэтан (500)	Ацетон (750)	5	0,005-0,2	ВЭЖХ-МС/МС	[219]
Вода	Медь	1-Ундеканол (70)	Этанол (500)	10	0,93	ААС	[220]
Кофе	Акриламид	Дихлорметан (100)	Ацетонитрил (400)	0,3	0,9	ВЭЖХ-МС/МС	[221]
Гидрогенизированный растительный жир	Никель	HNO ₃ (300)	н-Пропанол (700)	5	0,41	ЭТААС	[222]

Продолжение таблицы

Образец	Аналит(ы)	Экстрагент (мкл)	Диспергатор (мкл)	Объем пробы	ПО, мкг/л	Метод анализа	Ссылка
Плазма	Рisperидон, 9-гидроксириперидон	Хлорбензол (80)	Ацетон (500)	0,25	5,0	ВЭЖХ-МС/МС	[223]
Мед	паклобутразол, миклобутанил, диниконазол, эпосиконазол	Дихлорметан (400)	Ацетон (1000)	2	0,005-0,028	ВЭЖХ-МС/МС	[224]
Моча	Бисфенол А Бисфенол В	Тетрахлорэтилен (50)	Ацетонитрил (1325)	5	0.03 - 0.05	ГХ/МС	[225]
ГХ-МС - Газовая хроматография с масс-спектрометрией, ГХ-ПФД – Импульсная газовая хроматография с пламенно детектором, ВЭЖХ-МС/МС - жидкостная хроматография с tandemной масс-спектрометрией, ААС - пламенная атомно-абсорбционная спектрометрия, ЭТААС - атомно-абсорбционная спектрометрия с электротермической атомизацией							

1.4. Автоматизация химического анализа на принципах проточных методов

Автоматизация и миниатюризация аналитических процедур являются актуальными направлениями в современной аналитической химии. Это связано с тем, что рутинные анализы часто проводятся в больших количествах, и поэтому необходимо разрабатывать и совершенствовать аналитические процедуры для значительного уменьшения потребления образцов и реагентов, минимизации образования отходов и увеличения производительности анализа. Проточные методы, предложенные во второй половине двадцатого века, стали привлекательным направлением для исследователей в области автоматизации химического анализа и признаны отличным инструментом для автоматизации и миниатюризации основных этапов химического анализа, включая не только стадию детектирования, но и стадии пробоподготовки [226]. Эти методы изначально были ориентированы на автоматизацию анализа жидких образцов, но позже также были применены к автоматизации анализа газовых и твёрдых образцов. Основные аналитические особенности большинства проточных методов включают точное введение малых объемов, обычно микролитров, образца в проточную гидравлическую схему, что позволяет обеспечить минимизацию ошибок и реализовать гибкую модульную структуру проточных схем. Проточные системы обычно состоят из насосов, кранов-переключателей, коммутирующих трубок, смесительных или реакционных камер, детекторов и компьютера или микропроцессора, который управляет последовательностью всех аналитических процедур в системе. Проточные методы анализа являются эффективным инструментом для автоматизации и миниатюризации основных стадий химического анализа (Рисунок 14). Многочисленные варианты проточных методов и их технологические особенности описаны в литературе в большом числе оригинальных методик и ряде обзоров [227] [228].

Первоначально проточные методы были направлены на решения задачи смешивания потоков пробы жидкой подготовленной пробы и потоков реагентов для получения аналитических форм и их детектирования в проточных детекторах. Однако в последние десятилетия существует тенденция использования проточных методов для решения задач автоматизации всех стадий пробоподготовки, в том числе жидкостной микроэкстракции. В настоящее время с помощью проточных методов уже реализованы различные автоматизированные способы жидкостной микроэкстракции.

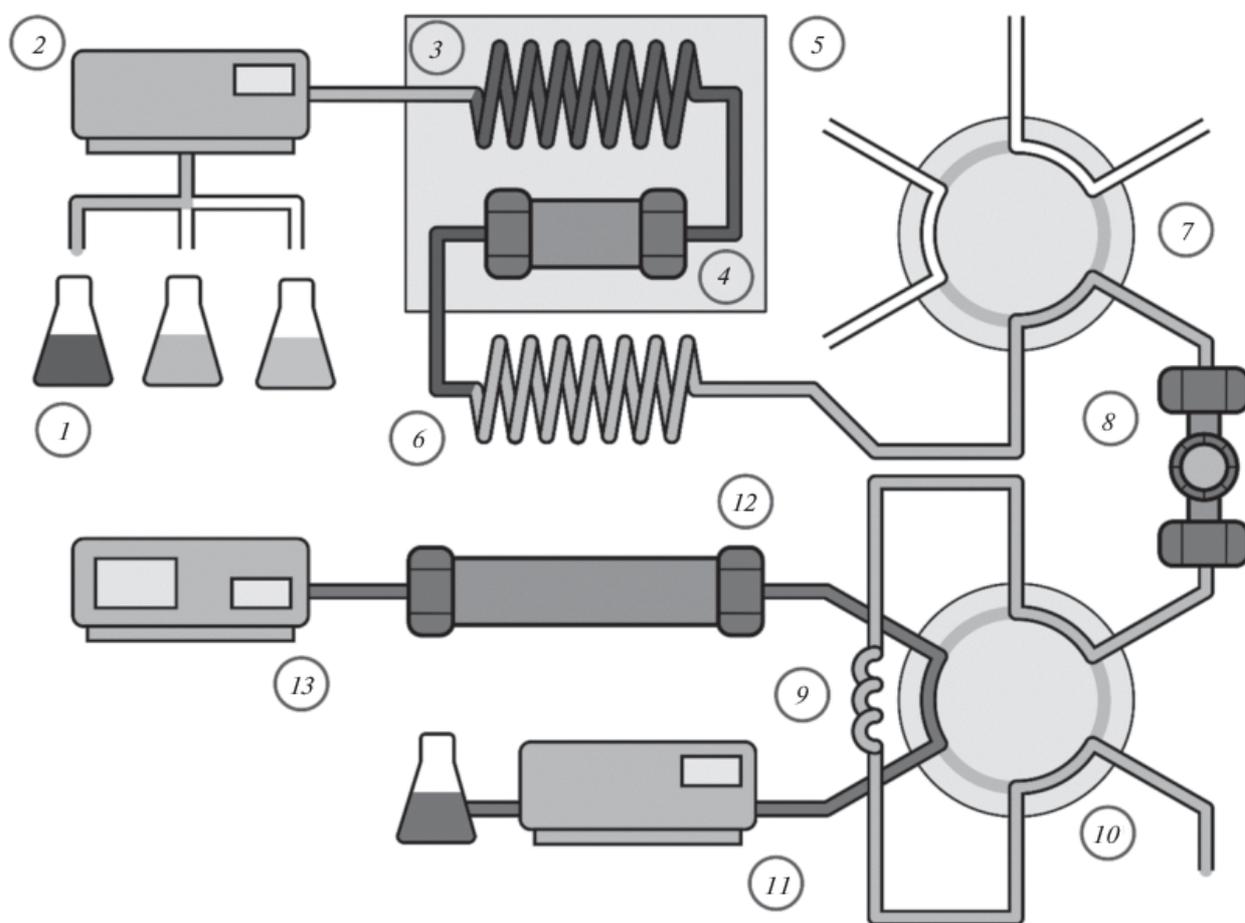


Рисунок 14 – Схема установки для сорбционно-хроматографического определения фенолов с использованием петли дозирования. (1) проба, элюент и раствор для промывки; (2) насос 1; (3) спираль для предварительного нагрева; (4) колонка для концентрации; (5) термостат; 6 – спираль для охлаждения; (7) инжектор 1; (8) ограничитель давления; (9) петля дозатор; (10) форсунка 2; (11) насос 2; (12) хроматографическая колонка; (13) детектор [227].

Дисперсионная жидкостная микроэкстракция как один из самых распространённых методов микроэкстракции также была автоматизирована с помощью различных проточных методов. Для этого смесь диспергатора и экстрагента, как и в ручном варианте впрыскивалась в поток пробы, что приводило к образованию микроэмульсии. Полученный двухфазный раствор пропускали через микроколонку с гидрофобным сорбентом для того, чтобы капли органической фазы, содержащие аналит, задерживались в ее порах. После этого через микроколонку подавали растворитель для элюирования аналитов и подачи его раствора в проточный детектор. Большая площадь поверхности экстрагента в потоке пробы, реализуемая за счет диспергатора, способствовала быстрой кинетике экстракции [229].

В случае использования проточных сепараторов становится возможным разделение фазы экстрагента и пробы без использования проточных колонок. Данный метод включает инъекцию смеси диспергатора и экстрагента в пробу в специальной конической смесительной камере с последующим самопроизвольным разделением смеси на две фазы. При использовании экстрагента с плотностью выше, чем у воды наблюдается самопроизвольное осаждение капель на дне камеры. Затем фаза экстрагента направляется в проточный детектор для анализа. Также разделение фаз возможно за счет понижения температуры. В таком случае становится возможным использование экстрагентов с плотностью ниже, чем у воды, например длинноцепочечных спиртов. После смешивания экстрагента (спирта) и диспергатора (полярного органического растворителя) с фазой пробы полученный двухфазный раствор перемещали в фазовый сепаратор, где при низкой температуре верхняя фаза экстрагента кристаллизуется на поверхности пробы. Проба отбрасывалась, а фаза экстрагента после расплавления подавалась в проточный детектор [230].

Несмотря на очевидные преимущества автоматизированного варианта ДЖМЭ, такие как быстрая кинетика экстракции, простота эксплуатации,

низкая стоимость и минимальное образование отходов, метод имеет те же недостатки, что и ручной вариант, а именно необходимость использования диспергатора, который увеличивает растворимость аналитов в фазе проб, и тем самым ухудшает эффективность экстракции.

Для улучшения эффективности автоматизированной дисперсионной жидкостной микроэкстракции было реализовано несколько различных вариантов без использования диспергатора. Так, был предложен способ диспергирования фазы экстрагента углекислым газом за счет смешивания кислоты, содержащей экстрагент и раствора карбоната в пробе. Это приводило к интенсивному образованию пузырьков углекислого газа и эффективному диспергированию экстрагента в объеме пробы. Полученная соль может также выступать в качестве высаливателя, уменьшая гидратацию аналита [231].

Другой вариант микроэкстракционного диспергирования без использования диспергатора предложен в работе [232], и заключается в интенсивном перемешивании пробы и экстрагента внутри шприца шприцевого насоса с помощью микровкладыша магнитной мешалки, помещённый внутрь устройства. Этот метод получил название «лаборатория в шприце» [233] [234]. Метод «лаборатория в шприце» представляет собой проточный метод анализа, который использует шприцевые насосы для автоматизации различных аналитических процедур, в том числе внутри шприца. Эта методология позволяет проводить пробоподготовку образцов, экстракцию, дериватизацию и анализ в одном компактном устройстве. Основное преимущество данного подхода заключается в том, что все этапы анализа происходят внутри герметичного шприца, что минимизирует риск контаминации и уменьшает использование реагентов и образцов (Рисунок 15).

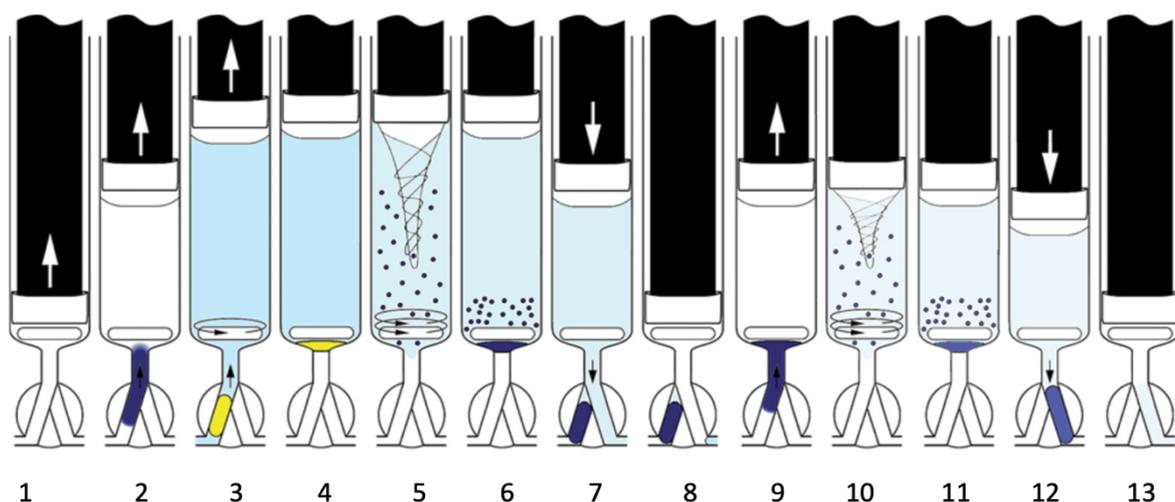


Рисунок 15 – Пример процесса экстракции при использовании техники «лаборатория в шприце». Схема работы экстракции с простой промывкой экстракта. Аспирация образца, буфера и реагента (1,2), смешивание (3), аспирация экстрагента (4), экстракция (5), осаждение экстрагента (6), отбор экстрагента и сброс пробы (7,8), возврат экстракта в шприц (9), промывка экстракта (10), осаждение экстракта (11), ввод экстракта в детектор (12), сброс раствора для промывки (13) [235].

Аспирация пробы и экстрагента осуществляется автоматическим шприцевым насосом, который обеспечивает точное и воспроизводимое введение необходимых объемов жидкостей. Внутри шприца создаётся турбулентность, обеспечивающая эффективное смешивание фаз. Турбулентность достигается за счёт вращения вкладыша магнитной мешалки, что приводит к образованию мелких капель экстрагента в водной фазе. В это время шприц служит реакционной камерой, где происходит взаимодействие компонентов. После этого выдерживается пауза для разделения фаз. После завершения экстракции раствор аналитов направляется в проточный детектор.

Данный метод обладает рядом преимуществ, так как герметичность системы обеспечивает безопасность пользователя и предотвращает контаминацию образцов, а также это препятствует испарению органических растворителей. Данный метод позволяет работать с малыми объемами образцов и реагентов, что снижает затраты и уменьшает количество отходов.

Это особенно важно для дорогостоящих реагентов. Весь процесс анализа автоматизирован, что повышает точность и воспроизводимость результатов. Программируемые насосы и краны-дозаторы позволяют выполнять сложные аналитические процедуры без вмешательства оператора. Внутрь шприца можно вводить жидкости, газы и даже суспензии, что делает метод применимым для различных аналитических задач. Это позволяет использовать данный вариант проточного анализа для анализа различных типов образцов, включая биологические, природные и промышленные. После проведения стадии экстракции шприц может быть быстро и эффективно очищен подходящим растворителем. Это снижает риск возникновения эффекта памяти между анализами и упрощает подготовку системы к следующему анализу. В шприце можно создавать положительное или отрицательное давление, что помогает в процессах экстракции и испарения. Это позволяет адаптировать условия анализа для специфических требований. Кроме того, стеклянные шприцы могут быть использованы в качестве кювет для фотометрического анализа.

Данный метод был успешно использован для автоматизации различных методик химического анализа. В работе [236] был предложен метод с использованием метода газовой хроматографии-масс-спектрометрии для определения фталатов и УФ-фильтров. Процедура включала аспирацию смеси экстрагента (хлороформ) и диспергатора (ацетон) в шприц, за которой следовала быстрая аспирация водного образца. Создавалась турбулентность, образующая мелкие капли экстрагента, что способствовало эффективной экстракции аналитов. После этого шприц соединялся с детектором для анализа полученных экстрактов. Это позволило достичь высокой чувствительности и точности анализа, минимизируя расход реагентов и образцов. Для извлечения технеция-99 [237] из водных образцов была предложена процедура, включающая извлечение аналита в трибутиламин с использованием в качестве диспергатора метанола. Автоматизированная методика была использована для извлечения и определения хрома в виде комплекса с дифенилкарбазоном

[238]. Хлороформ использовался в качестве экстрагента, а ацетонитрил – в качестве диспергатора. В качестве метода анализа использовали метода ААС-ЭТ. Примеры использования метода «лаборатория в шприце» приведены в Таблице 6.

Таким образом, можно сделать заключение, что проточный метод «лаборатория в шприце» является достаточно простым, и в тоже время универсальным, что позволяет использовать его для автоматизации различных стадий пробоподготовки в том числе и метода ДЖМЭ. Однако метод «лаборатория в шприце» не нашел применения для жидкостной микроэкстракции в ЭР.

Таблица 6 – Примеры использования проточного метода «лаборатория в шприце»

Объект анализа	Аналиты	Экстрагент /сорбент/растворитель	Объем пробы, мл	Время анализа, мин	Метод анализа	Анализ в час	ПО, мкг/л	Ссылка
Природная вода	Мебендазол, бисфенол А, бензил-4-гидроксибензоат, диклофенак, триклозан	Fe ₂ O ₃ /Метанол (600 мкл)	3,5	6	ВЭЖХ-УФ	10	1,2-6,5	[239]
Молоко	Сульфаниламиды	Ацетонитрил (1000 мкл)	0,5	9,5	ВЭЖХ-УФ	5,7	25,3-35,6	[240]
Сыворотка крови	Бисопролол, метопролол, пропранолол, пиндолол	Ацетонитрил (200 мкл)	0,1	8,5	ВЭЖХ-МС-МС	7	0,4-1,5	[241]
Питьевая вода	Бисфенол А	Сорбция на колонке, элюирование ацетонитрилом (400 мкл)	50	7	ВЭЖХ-УФ	8	0,5	[242]
Биологические образцы	Hg	Амоний пирролидиндителиокарбамат, SnCl ₂ в HCl	1,7	5	Атомно-абсорбционная спектрометрия, вариант «холодного пара»	14	0,02	[243]
Природная воды	о-нитрофенол, м-нитрофенол, п-нитрофенол)	1-октанол (400 мкл)	24	20	ВЭЖХ-УФ	3	0,02-0,26	[244]
Моча	Сульфатизол, сульфамезин, сульфаметоксазол, сульфадиметоксин	Ацетонитрил (650 мкл)	400	13	ВЭЖХ-УФ	4,4	5,0-7,5	[245]
Сточные воды	Pb	Ксилол (2500 мкл)	10	4,6	Спектрофотометрия	13	9,0	[246]
Природная вода	Cd, Pb	Метилизобутилкетон (400 мкл)	12	3,3	ААС	18	0,20 - 1,7	[247]
Природная вода	Кетопрофен, напроксен, флурбипрофен, диклофенак, ибупрофен	Микроколонка (4,4 мг сорбента Oasis HLB®)	4	13	ВЭЖХ-УФ	4,6	0,06-1,98	[248]

1.5. Выводы по обзору литературы

В настоящее время микроэкстракционные методы и их автоматизация на принципах проточных методов позволяют существенно упростить процедуру пробоподготовки и радикально сократить расход как пробы, так и используемых реагентов. Однако остается необходимость поиска и изучения новых экстракционных систем с целью повышения экологической безопасности методов, селективности и чувствительности. Применение эвтектических растворителей как эффективных и дизайнерских растворителей может позволить решить эти актуальные задачи. При этом предпосылки о неустойчивости ЭР при контакте с водной фазой требуют детального изучения процессов, происходящих с данными растворителями при выполнении микроэкстракции.

Поэтому данная диссертационная работа посвящена как изучению стабильности данного класса растворителей при контакте с водной фазой, так и разработке новых вариантов микроэкстракции и автоматизации химического анализа с их применением. Все установленные феномены и закономерности при изучении стабильности ЭР найдут применение для разработки системного подхода к микроэкстракционному выделению и концентрированию полярных и неполярных веществ из объектов со сложной матрицей для последующего их определения различными методами анализа.

ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Средства измерений и оборудование

1. Высокоэффективный жидкостный хроматограф LC-20 (Shimadzu, Япония) с фотометрическим (диодная матрица) и флуориметрическим детекторами.
2. Газовый хроматограф «Хроматэк-Кристалл 5000» (Хроматэк, Россия) с пламенно-ионизационным детектором.
3. Газовый хроматограф-масс-спектрометр GC-MS-QP2010 Ultra (Shimadzu, Япония).
4. Ионный хроматограф LC-20 Prominence Suppressed Ion Chromatography (Shimadzu, Япония) с кондуктометрическим детектором.
5. Система ВЭЖХ-МС/МС LCMS-8030 (Shimadzu, Япония).
6. Инфракрасный спектрометр IR Affinity-1 (Shimadzu, Япония).
7. УФ-видимый спектрофотометр (UV mini1240, Shimadzu, Япония) с кварцевой кюветой (105-QS, Hellma Analytics, Германия) емкостью 300 мкл ($l = 10$ мм).
8. ЯМР спектрометр Bruker Avance 400 (Bruker, США).
9. Сканирующий электронный микроскоп (СЕМ) Vega 3 Tescan (Tescan Orsay Holding, Чехия).
10. Оптико-эмиссионный спектрометр с индуктивно связанной плазмой ICPE-9000 (Shimadzu, Япония).
11. Атомно-абсорбционный спектрометр с электротермической атомизацией AAS-7000 (Shimadzu, Япония).
12. Спектрометр USB 4000 (Ocean Optics Inc., США) с проточной ячейкой длиной пути 50 мм (FIALab® Instrument Systems Inc., США).
13. Потенциостат EmStat (PalmSens BV, Нидерланды) с комплектом одноразовых планарных печатных электродов на основе экранированных электродов (Rusens Ltd., Россия).
14. рН/ISE/ЕС-метр Hanna Instruments HI4522, оснащенный платиновым

четырёхкольцевым зондом электропроводности HI76312 с встроенным датчиком температуры (Hanna Instruments, США).

15. Электронные весы «Ohaus Pioneer PA 214 C» (Ohaus, Китай), 1 класс точности, предел взвешивания 210 г, погрешность 0,1 мг.
16. Кулонометр Metrohm 831 KF (Metrohm, Швейцария).
17. Лабораторный плотномер DMA 4500 (AntonPaar, Австрия).
18. Шприц хроматографический вместимостью 100 мкл.
19. Перемешивающее устройство LOIPLS-120 (ЛОИП, Россия).
20. Ванна ультразвуковая 2,8 л («Сапфир», Россия). Температурный диапазон от +15°C до +80°C. Точность поддержания температуры $\pm 1^\circ\text{C}$.
21. Центрифуга CM-50, «Эппендорф», 12 × 2 мл, 1-15 тыс. об/мин (ELMI, Латвия).
22. Прибор синхронного термического анализа STA 449 F3 Jupiter (Netzsch, Германия) с алюминиевыми ячейками для образцов DSC (TA Instruments, Германия).
23. Система очистки воды Millipore Milli-Q RG (Millipore, США).
24. Лиофильная сушилка Freeze Dry System (FreeZone Plus 2.5 L Cascade, Labconco, Россия).
25. Микроволновая печь для кислотного разложения MDS-10 (Sineo, Китай).
26. Орбитальный шейкер (Loip, Россия).
27. Проточная система, состоящая из восьмиходового крана-переключателя (Sciware Systems SL, Испания), шприцевого насоса (Sciware Systems SL, Испания) (скорость потока от 0,3 до 15 мл/мин) со стеклянным шприцем объемом 1-5 мл, оснащенный магнитным перемешивающим ротором (Sciware Systems SL, Испания) и магнитным перемешивающим вкладышем (длина 3 мм, диаметр 2 мм).
28. Плотномера DMA 5000 (Anton Paar, Австрия).
29. Реометр MCR 702 TwinDrive (Anton Paar, Австрия).
30. Термостатическая ванна LOIP LT-105 (Loip, Россия).
31. Рефрактометр IRF-454 B2M Abbe (КОМЗ, Россия).

Реактивы для изготовления эвтектических растворителей

Лимонная кислота (НеваРеактив, Россия)

Винная кислота (НеваРеактив, Россия)

Яблочная кислота (НеваРеактив, Россия)

Гликолевая кислота (НеваРеактив, Россия)

Малоновая кислота (НеваРеактив, Россия)

Молочная кислота (80%) (НеваРеактив, Россия)

Гексановая кислота (НеваРеактив, Россия)

Гептановая кислота (НеваРеактив, Россия)

Октановая кислота (НеваРеактив, Россия)

Нонановая кислота (НеваРеактив, Россия)

Декановая кислота (НеваРеактив, Россия)

Уксусная кислота (НеваРеактив, Россия)

Муравьиная кислота (НеваРеактив, Россия)

Щавелевая кислота (НеваРеактив, Россия)

Янтарная кислота (НеваРеактив, Россия)

Борная кислота (НеваРеактив, Россия)

Аскорбиновая кислота (НеваРеактив, Россия)

Малеиновая кислота (НеваРеактив, Россия)

Адепиновая кислота (НеваРеактив, Россия)

Бензойная кислота (НеваРеактив, Россия)

Галловая кислота (НеваРеактив, Россия)

Миндальная кислота (НеваРеактив, Россия)

Этиленгликоль (НеваРеактив, Россия)

Глицерин (НеваРеактив, Россия)

1,4-бутандиол (Sigma-Aldrich, Швейцария)

Триэтиленгликоль (НеваРеактив, Россия)

Циклогексанол (НеваРеактив, Россия)

Амиловый спирт (Реахим, Россия)

Гексанол (Реахим, Россия)
Гептанол (Реахим, Россия)
Октанол (Реахим, Россия)
Деканол (Реахим, Россия)
Додеканол (Реахим, Россия)
Тетрабутиламмоний бромид (Sigma-Aldrich, Швейцария)
Тетраоктиламмоний бромид (Sigma-Aldrich, Швейцария)
Тетраметиламмоний бромид (Sigma-Aldrich, Швейцария)
Тетраэтиламмоний бромид (Sigma-Aldrich, Швейцария)
Глюкоза (НеваРеактив, Россия)
Фруктоза (НеваРеактив, Россия)
Сорбит (НеваРеактив, Россия)
Мальтоза (НеваРеактив, Россия)
Сахароза (НеваРеактив, Россия)
Мочевина (НеваРеактив, Россия)
Тиомочевина (НеваРеактив, Россия)
Бензамид (НеваРеактив, Россия)
Хлорид холина (Sigma-Aldrich, Германия)
Фенол (НеваРеактив, Россия)
Ментол (Sigma-Aldrich, Германия)
Тимол (Sigma-Aldrich, Германия)

Аналиты

1. Бисфенолы А, С, F (Sigma-Aldrich, Германия)
2. Эстрадиол (Sigma-Aldrich, Швейцария)
3. Сульфаметоксазол (Sigma-Aldrich, Швейцария)
4. Сульфаметазин (Sigma-Aldrich, Швейцария)
5. Кетопрофен (Sigma-Aldrich, Германия)
6. Диклофенак (Sigma-Aldrich, Германия)

7. Мышьяк (Экрос, Россия)
8. Водный раствор металлов (Sigma Aldrich, Германия), содержащий 1 г/л (Cu(II), Cd(II), Co(II), Cr(VI), Fe(III), Pb(II), Zn(II))
9. Фенол, *o*-крезол, *n*-крезол эвгенол, изоэвгенол, гваякол (Sigma Aldrich Германия)
10. Галловая кислота, протокатеховая кислота, тирозол, ванилиновая кислота, *n*-кумариновая кислота, сиреневый альдегид и тимол (Sigma Aldrich, Германия).
11. Для определения металлов в органических матрицах (маслах) использовали следующие 2-этилгексонаты: натрий (Na), калий (K) магний (Mg), кальций (Ca), барий (Ba), стронций (Sr), медь (Cu), никель (Ni), свинец (Pb), цинк (Zn), железо (Fe), кобальт (Co), марганец (Mn) алюминий (Al), хром (Cr) титан (Ti), ванадий (V) молибден (Mo), бор (B) (ABCRC, Германия).

Условия химического анализа экстрактов

Условия для ГХ-МС определения фенола и тетрагидрофурана

Для определения фенола и тетрагидрофурана использовалась система GC-MS-QP2010 Ultra (Shimadzu, Япония) с капиллярной колонкой SPB-624 MS (6% цианопропил фенил и 94% диметил полисилоксан, 30 м, 0.25 мм в.д., 0.25 мкм покрытие). Температурный режим анализа: начальная температура 50 °С (2 мин.), затем нагрев до 250 °С со скоростью 10 °С/мин и удержание при этой температуре в течение 10 мин.

Условия для ВЭЖХ-ФЛД определения бисфенола А

Хроматографическое разделение выполняли с использованием системы LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) и колонки Zorbax Bonus-RP (Agilent, 250 мм × 2,1 мм, 3,5 мкм). Мобильная фаза состояла из смеси воды и метанола 25/75. Элюирование анализа проводили при скорости потока 1 мл/мин. Флуоресцентное детектирование выполняли при длинах волн возбуждения и эмиссии – 230 и 305 нм соответственно.

Условия для ВЭЖХ-УФ определения тетрабутиламмония бромида

Определение тетрабутиламмония бромида проводили с использованием системы LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) и колонки Luna C18 (150×4 мм, 5 мкм) (Phenomenex). Разделение проводили в обращенно-фазовом режиме с использованием подвижной фазы– смеси ацетонитрила и 5×10^{-3} моль/л толуол-4-сульфоновой кислоты в соотношении 65/35. Скорость потока – 1 мл/мин, длина волны – 254 нм.

Условия для ВЭЖХ-УФ определения эстрадиола

Определение эстрадиола проводили с использованием системы LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) и колонки Luna C18 (150×4 мм, 5 мкм) (Phenomenex). Разделение проводили в обращенно-фазовом режиме с использованием подвижной фазы: смесь воды и ацетонитрила в соотношении 55/45. Скорость потока – 1 мл/мин, длина волны – 280 нм.

Условия для ВЭЖХ-УФ определения сульфаниламидов

Определение сульфаниламидов (сульфаметоксазол, сульфаметазин) выполняли с использованием системы LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) и колонки Luna C18 (250×4,6 мм, 5 мкм) (Phenomenex, США) при температуре 45°C. Подвижная фаза состояла из метанола и фосфатного буфера (pH 8,0) в соотношении 60/40. Скорость потока – 0,6 мл/мин, длина волны – 254 нм.

Условия для ВЭЖХ-УФ определения нестероидных противовоспалительных веществ

Хроматографическое разделение проводили в изократическом режиме с использованием колонки Luna C18 (150×4,6 мм, 5 мкм) (Phenomenex). Подвижная фаза состояла из метанола и 0,1 % водного раствора муравьиной кислоты в соотношении 75/25 (объ.). Скорость потока – 1 мл/мин, температура колонки – 45°C. Длины волн детектирования– 280 нм (диклофенак), 257 нм (кетопрофен).

Условия для ВЭЖХ-МС/МС определения нестероидных противовоспалительных веществ

Хроматографическое разделение проводили с использованием колонки Luna C18 (300×2,0 мм, 5 мкм) (Phenomenex) при температуре 50 °С. Подвижная фаза – метанол и 0,05 % водный раствор муравьиной кислоты в соотношении 75/25 (объ.). Скорость потока подвижной фазы – 0,5 мл/мин. Температура источника ионизации – 400 °С, скорость потока осушающего газа (N₂) – 15 л/мин, температура линии десольватации – 250 °С, скорость потока газа распылителя – 3 л/мин, напряжение капилляра – 4500 В.

Условия для ВЭЖХ-ФЛД определения фенольных соединений

Определение фенольных соединений проводили с использованием системы LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) и колонки Supelco C18 (250×4,6 мм, 5 мкм). Подвижная фаза – ацетонитрил (А) и 0,1 % муравьиная кислота (В) в соотношении 40/60 (объ.). Скорость потока – 1 мл/мин, температура системы – 40 °С. Длины волн поглощения и флуоресценции – 270 нм и 310 нм соответственно.

Условия для ВЭЖХ-ФЛД определения полифенольных соединений

Определение полифенольных соединений проводили с использованием системы LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) и колонки Synergi 4u Polar-RP 80A (250×4,6 мм, 4,1 мм) (Phenomenex, США). Подвижная фаза – ацетонитрил и 0,01 % уксусная кислота в градиентном режиме. Скорость потока – 0,8 мл/мин, температура системы – 40 °С. Длины волн поглощения и флуоресценции – 270 нм и 350 нм соответственно.

Условия для ВЭЖХ-ФЛД определения бисфенолов А, С, F

Определение бисфенолов А, С, F проводили с использованием системы LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) и колонки Luna C18 (250×4,6 мм, 5 мкм) (Phenomenex, США). Подвижная фаза – вода и ацетонитрил в соотношении 70/30

(объ.). Скорость потока – 1,0 мл/мин, температура системы 35 °С. Длины волн возбуждения и эмиссии флуоресценции – 230 нм и 305 нм соответственно.

Условия ИСП-ОЭС определения элементов в растворах экстрактов и минерализатов

Анализ проводили с использованием спектрометра ICPE-9000, оснащенного концентрическим распылителем и циклонной распылительной камерой. Основные параметры анализа приведены в Таблице 7. Во всех измерениях для создания плазмы использовался газ аргон (99,999 %).

Таблица 7 – Параметры ИСП-ОЭС для определения элементов.

Параметр	Значение
Скорость потока пробы, мл/мин	1,0
Расход газа генерации плазмы, мл/мин	10,0
Расход вспомогательного газа, мл/мин	0,2
Расход газа небулайзера, мл/мин	1,0
Мощность ВЧ-генератора, кВт	1,5

Условия ЭТ-ААС определения элементов в растворах экстрактов и минерализатов

Для проведения анализа ЭТ-ААС 10 мкл раствора экстракта вводили в систему с помощью микропипетки автодозатора. Использовали лампу с полым катодом для соответствующего элемента, со спектральной шириной полосы пропускания 0,8 нм. Основные параметры анализа представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Параметры ЭТ-ААС для определения элементов.

Шаг	Температура, °С	Время, с	Расход газа, мл/мин
1	60	3	0,1
2	120	20	0,1
3	250	10	0,1
4	800	10	1,0
5	800	10	1,0
6	800	3	0
7	2300	3	0
8	2500	2	1,0

Условия определения свинца и кадмия методом ИВА

На поверхности печатного углеродного рабочего электрода осаждали тонкую пленку ртути из 5 мл раствора 80 мг/л нитрата ртути (II) в 0,1 моль/л соляной кислоты при -1,1 В в течение 2 мин. Затем задавали потенциал -0,2 В для очистки поверхности электрода в течение 2 мин.

Каждый этап измерений начинали с кондиционирования при потенциале -0,3 В в течение 60 сек. Осаждение аналитов проводили при потенциале -1,1 В в течение 120 сек. Вольтаммограммы регистрировали с шагом потенциала 5 мВ, амплитудой 25 мВ и частотой 25 Гц в диапазоне потенциалов от -1,1 В до -0,2 В.

Реальные образцы

1. Газированные тонизирующие напитки
2. Газированная вода
3. Соки
4. Подсолнечное масло
5. Оливковое масло
6. Рапсовое масло
7. Куриная грудка
8. Куриный фарш
9. Говяжья печень
10. Сухое молоко (содержание жиров 26 и 42 %)
11. Копченая колбаса
12. Копченая рыба
13. Фармацевтический препарат Divigel
14. Моча человека.

Приготовление проб для анализа методом «введено-найдено»:

Приготовление жидкофазных пищевых проб с добавками аналитов

Пробы питьевой воды и напитков с добавками аналитов готовили путем добавления 0,1 мл метанольного раствора аналитов к 9,9 мл пробы.

Приготовление твердофазных пищевых проб с добавками аналитов

Твердофазные пищевые пробы (мясо птицы, говяжья печень) готовили для анализа следующим образом: образцы гомогенизировали с использованием миксера и хранили при $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Для приготовления образцов с добавками, гомогенизированные образцы лиофилизировали до постоянной массы, а затем хранили при $5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Перед анализом к пробе добавляли необходимое количество рабочего раствора аналитов в воде, равное потере воды на стадии лиофилизации и перемешивали магнитной мешалкой в течение 30 мин.

Приготовление копченых твердофазных пищевых проб с добавками аналитов

К образцам гомогенизированных копченых продуктов (рыба, колбаса) добавляли раствор фенолов (фенол, *o*-крезолы, *n*-крезолы эвгенол, изоэвгенол, гваякол) в изооктане. Полученную смесь перемешивали, оставляли для испарения изооктанана. Образцы хранились в темном месте при $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ и использовались в течение 1 месяца.

Приготовление проб пищевых масле с добавками полифенолов

Рабочие растворы полифенольных соединений в масле (галловая кислота, протокатеховая кислота, тирозол, ванилиновая кислота, *n*-кумариновая кислота, сиреневый альдегид и тимол) готовили непосредственно перед экспериментами путем добавления раствора аналитов в метаноле к пробе масла, предварительно очищенной от аналитов методом жидкостной экстракции смесью метанол/вода 2/1. Степень очистки контролировали методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии.

Приготовление проб пищевых масел с добавками металлов

Рабочие раствор металлов в масле () готовили непосредственно перед экспериментами путем добавления раствора 2-этилгексанатов аналитов в метаноле к пробе масла.

Приготовление проб мочи с добавками аналитов

Анализируемыми образцами были образцы мочи, собранные через 2 часа после приема препаратов, содержащих кетопрофен или диклофенак. Образцы хранились в холодильнике до анализа. Перед анализом к 8 мл образца мочи добавляли 1,5 мл 1 моль/л NaOH и выдерживали 30 мин. при комнатной температуре для гидролиза ацилглюкуронидов. Затем добавляли 1,5 мл 1 моль/л HCl и хранили в холодильнике.

Характеристики для оценки эффективности извлечения аналитов

Жидкостная экстракция

В процессе экстракции распределение вещества А в условиях равновесия в системе, состоящей из двух жидких фаз (органической (о) и водной (в)), ограниченно смешивающихся между собой, можно представить в следующем виде:



Согласно закону распределения Нернста при постоянных значениях температуры и давления отношение активностей одной и той же формы вещества в этих фазах является постоянной величиной. В этом случае справедливо записать уравнение, которое описывает *константу распределения Нернста*:

$$K_D^0 = \frac{(a_A)_o}{(a_A)_в}$$

На практике при выборе экстрагента используют *коэффициент распределения*, который учитывает отношение суммарных концентраций всех форм вещества в двух фазах и показывает, как распределено вещество между равными объемами водной и органической фаз и выражается формулой:

$$D = \frac{C_o}{C_в}$$

Еще одной характеристикой является степень извлечения (*R*), которая характеризует эффективность извлечения вещества А из одной фазы в другую.

$$R, \% = \frac{C_o V_o \cdot 100}{C_в V_в + C_o V_o} = \frac{D \cdot 100}{D + V_в / V_o}$$

(C – концентрации аналитов в соответствующей фазе, V – объемы соответствующих фаз)

Коэффициент концентрирования также служит для оценки эффективности концентрирования и показывает, во сколько раз изменяется отношение концентрации вещества в органической фазе (C_o) по отношению к его исходной концентрации в пробе и выражается формулой:

$$N = \frac{C_o}{C_{\text{проба}}}$$

Если потерь вещества в ходе его извлечения не было, то предполагается, что коэффициент концентрирования приблизительно равен отношению объема пробы к объему органической фазы.

На практике при выборе экстракционных систем внимание уделяют двум параметрам: степени извлечения и коэффициенту концентрирования.

Глава 3. Устойчивость эвтектических растворителей при контакте с водной фазой

Поскольку движущей силой формирования эвтектических растворителей является образование водородных связей, а большинство компонентов ЭР гигроскопичны и растворимы в воде, необходимо учитывать влияние воды на их свойства и структуру как компонента, который также может образовывать водородные связи. Недавние исследования выявили значительное влияние воды на свойства ЭР, такие как плотность, вязкость, электропроводность [81]. Присутствие воды в составе ЭР может существенно повлиять на их стабильность и свойства, приводя к фазовому разделению или разложению смеси. В свою очередь стабильность ЭР имеет решающее значение для их практического применения, так как напрямую влияет на их долговечность, а также возможность многократного использования. Взаимодействие между молекулами воды и компонентами ЭР может нарушать сеть водородных связей, что может приводить к изменениям в их вязкости, плотности и электрической проводимости системы. Учитывая то, что ЭР зачастую являются высоковязкими растворителями, что препятствует их эффективному использованию в качестве экстрагентов в аналитической химии,

снижение вязкости за счет добавки воды может существенно расширить области использования ЭР в химическом анализе. Это, в свою очередь, приведет к изменению практических свойств этих растворителей. Например, в процессе экстракции органических или неорганических аналитов из различных образцов, вода может изменять растворяющие свойства ЭР, влияя на их способность растворять и извлекать целевые молекулы. Понимание того, как вода влияет на стабильность ЭР в процессах экстракции, важно для разработки эффективных и устойчивых методов экстракции. Вода также может влиять на реакционную способность ЭР, либо способствуя, либо ингибируя определенные реакции. Молекулы воды в составе ЭР могут выступать в качестве катализаторов или реагентов, участвующих в химических превращениях внутри матрицы ЭР. Например, в катализе, в среде ЭР, вода может выступать в качестве соразтворителя, увеличивая растворимость и реакционную способность субстратов [81]. С другой стороны, вода может препятствовать некоторым реакциям, влияя на локальную концентрацию реагентов.

В последние годы все больше исследований сосредоточено на изучении влияния воды на различные физико-химические свойства ЭР. С практической точки зрения наиболее важными свойствами ЭР являются их плотность и вязкость, которые влияют на большинство процессов при их использовании. Поэтому в рамках данной работы было детально исследовано влияние воды на различные свойства ЭР.

Первые предложенные в литературе ЭР состояли из полярных водорастворимых веществ и назывались гидрофильными. Наиболее распространенными ЭР на основе полярных компонентов являются смеси холина хлорида и карбоновых кислот, таких как лимонная, винная, яблочная, малоновая, молочная и гликолевая в мольном соотношении 1/1 [249]. ЭР на основе данных соединений могут быть эффективно использованы для проведения как молекулярного, так и элементного анализа. Они преимущественно нашли применение для выделения и концентрирования аналитов из твердофазных и жидких органических объектов анализа. Одной из особенностей данных

растворителей, существенно ограничивающей их применение в аналитической химии, является их высокая вязкость. Поэтому во многих работах авторы часто добавляли к таким ЭР воду, которая существенно снижала вязкость, но могла по-разному оказывать влияние на процессы экстракции. При этом в представленных работах не рассматривалась возможность разрушения ЭР в присутствии воды. Поэтому в данной работе с целью изучения процессов взаимодействия воды с подобными ЭР и подтверждения их стабильности было исследовано влияние воды на различные свойства данного класса ЭР.

На первом этапе были получены ИК-спектры и изучены физико-химические свойства (кинематическая вязкость, плотность, электропроводность) гидрофильных ЭР на основе холина хлорида и карбоновых кислот (лимонная, винная, яблочная, гликолевая, малоновая и молочная) с содержанием воды до 50 массовых %.

ИК-спектроскопия является одним из наиболее распространенных методов исследования эвтектических растворителей. Этот метод показывает какие функциональные группы взаимодействуют при образовании ЭР. В данной работе были получены ИК-спектры в варианте нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) как для исходных соединений, таких как кислоты, хлорид холина и воды, так и для эвтектических растворителей и их смесей с водой (Рисунки 16 – 21). На примере ЭР на основе холина хлорида и яблочной кислоты установлено, что положение некоторых характерных полос кислот и хлорида холина значительно изменяется при образовании эвтектических растворителей. Наиболее заметные изменения включают сдвиг полос кислоты с 1441 см^{-1} (деформационные колебания CH_2 , $-\text{OH}$) до 1429 см^{-1} , с 1357 см^{-1} ($-\text{OH}$ и растяжение $\text{C}-\text{O}$) до 1346 см^{-1} , с 1177 см^{-1} (верные колебания CH_2) до 1171 см^{-1} , с 1097 см^{-1} (торсионные колебания CH_2) до 1047 см^{-1} , с 959 см^{-1} ($\text{C}-\text{C}$, $\text{C}=\text{O}$) до 951 см^{-1} , с 880 см^{-1} (вибрационные колебания $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}-\text{C}$, $\text{C}-\text{O}$) до 864 см^{-1} и с 664 см^{-1} ($\text{C}-\text{C}=\text{O}$) до 664 см^{-1} . Для яблочной кислоты также характерно наличие широкой полосы с двумя максимумами при 1737 и 1680 см^{-1} ($\text{C}=\text{O}$), что связано с образованием двух димерных ассоциатов двухосновной яблочной кислоты с парой соседних молекул,

расположенных в разных плоскостях. Установлено, что при образовании ЭР (яблочная кислота/хлорид холина) эта полоса сужается и смещается к положению 1721 см^{-1} . Это может быть связано с разрушением значительной части димеров и образованием новых водородных связей между свободными $\text{C}=\text{O}$ и $-\text{OH}$ группами яблочной кислоты и хлорид-ионом или $-\text{OH}$ группой хлорида холина. Это предположение подтверждается заметными изменениями в полосе колебаний $-\text{OH}$ -групп яблочной кислоты в области $3300\text{--}2500\text{ см}^{-1}$ и сдвигом интенсивной полосы при 3220 см^{-1} ($-\text{OH}$) для хлорида холина. В результате в спектре ЭР появляется широкая полоса с максимумом при 3347 см^{-1} . Стоит отметить сдвиг полос поглощения в холине с 1481 ($-\text{CH}_2$, $\text{C}-\text{OH}$) до 1478 см^{-1} , с 1141 ($\text{C}-\text{O}$) до 1100 см^{-1} , с 1011 (торсионные колебания $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$) до 1004 см^{-1} . Также в спектре эвтектического растворителя заметно значительное увеличение поглощения при 1393 см^{-1} , что может быть связано с наложением и сдвигом полос при 1408 см^{-1} ($-\text{OH}$, $\text{C}=\text{O}$) для кислоты, а также 1376 и 1349 см^{-1} ($\text{N}-\text{C}$) для хлорида холина. Следует также отметить, что при образовании всех ЭР, состоящих из карбоновых кислот и хлорида холина, не наблюдается новых полос поглощения в области $1650\text{--}1550$ и 1400 см^{-1} , соответствующих растяжению карбоксильных групп, что указывает на взаимодействие за счет образования именно водородных связей между компонентами. Все вышеперечисленное указывает на сильное взаимодействие между компонентами за счет образования водородных связей. В случае других кислот ситуация была аналогичной (Рисунки 17 – 21).

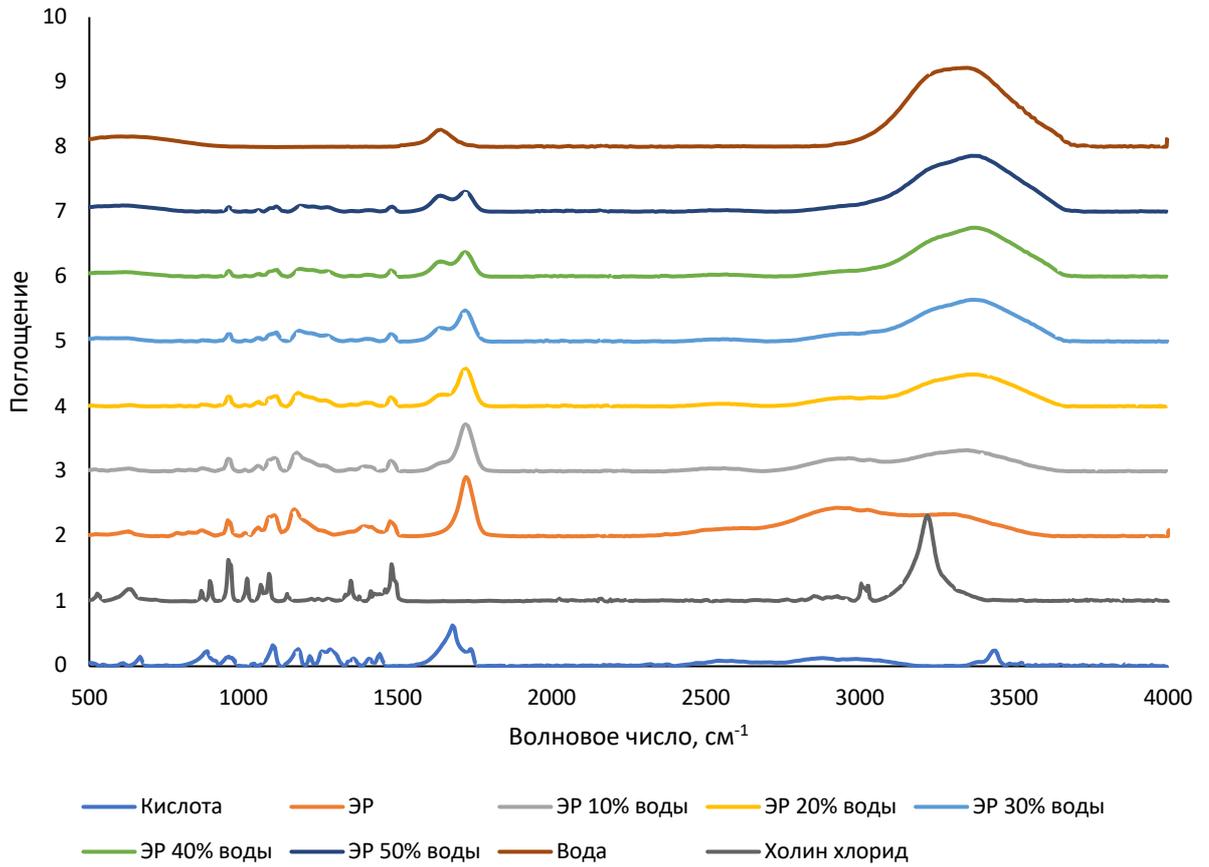


Рисунок 16 – ИК-спектр поглощения яблочной кислоты, холина хлорида, ЭР на их основе и трехкомпонентных смесей ЭР + вода, а также воды

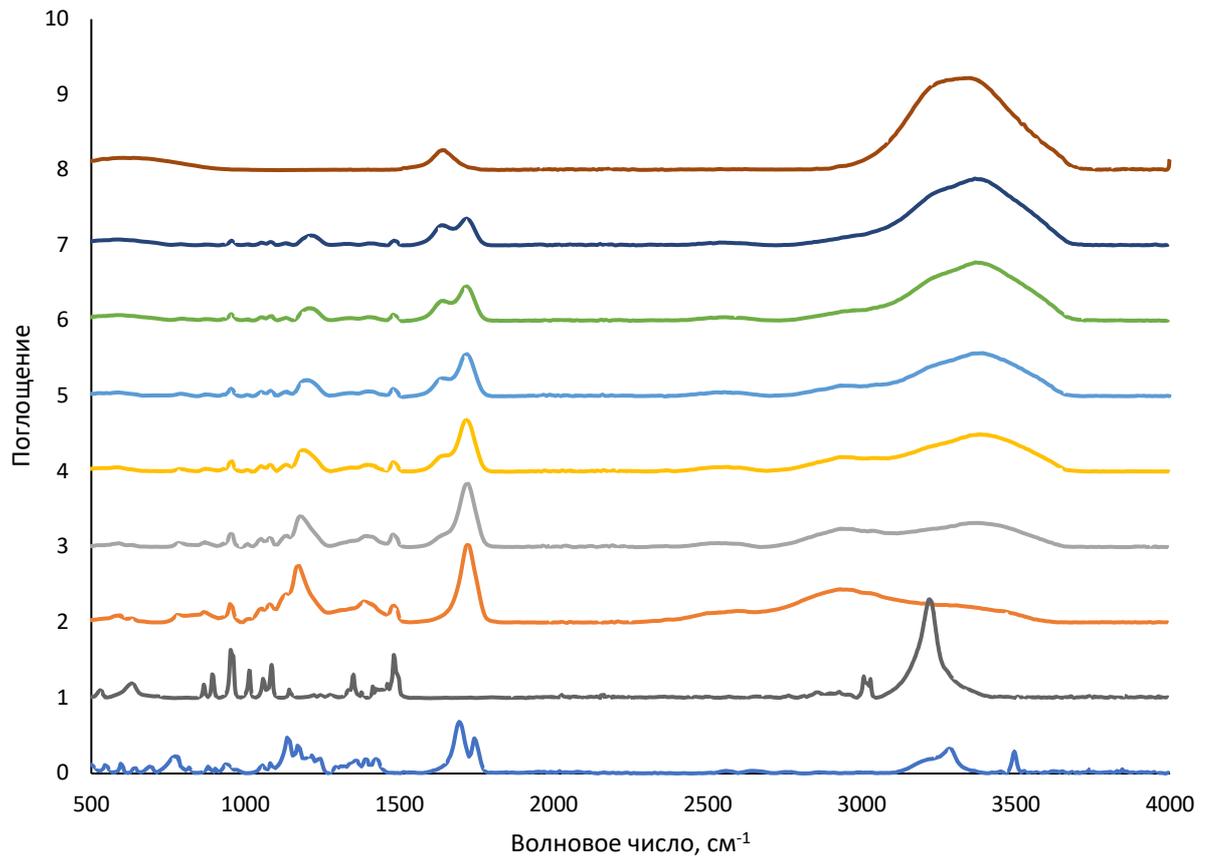


Рисунок 17 – ИК-спектр поглощения лимонной кислоты, холина хлорида, ЭР на их основе и трехкомпонентных смесей ЭР + вода, а также воды

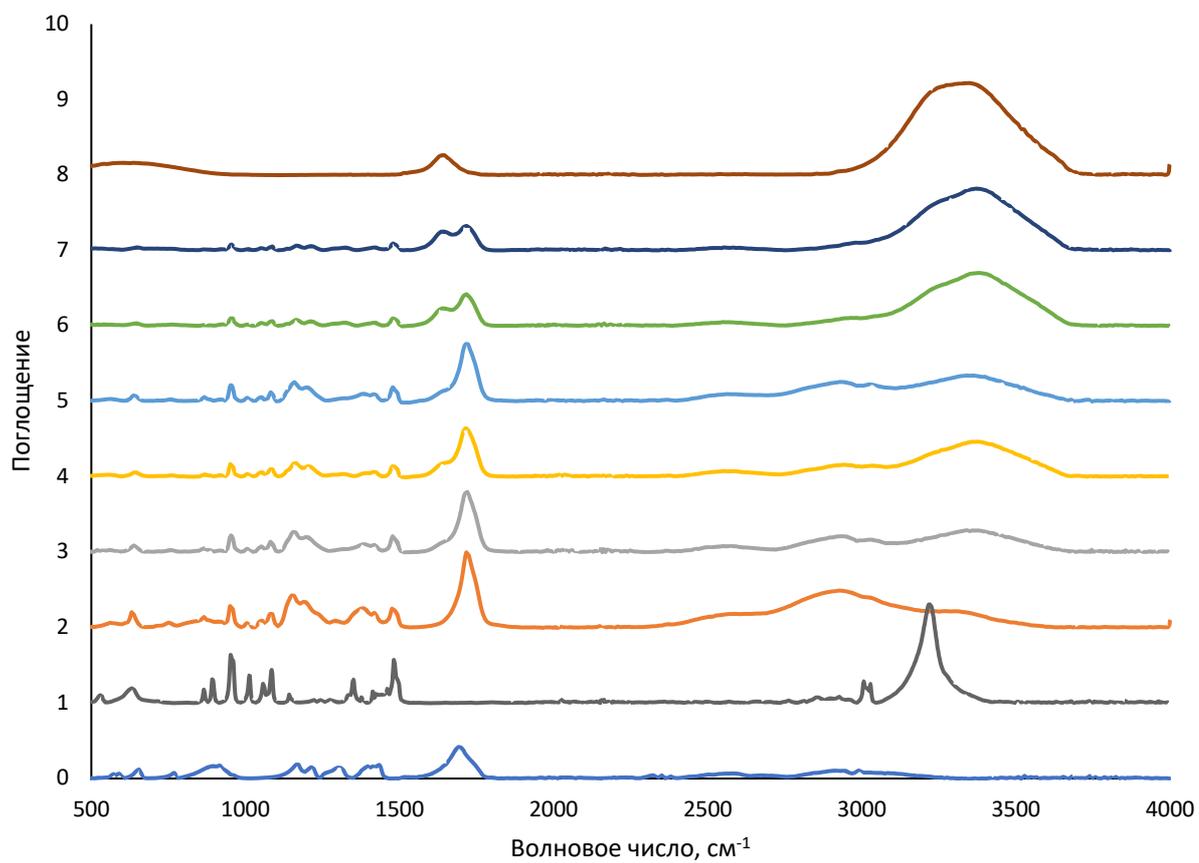


Рисунок 18 – ИК-спектр поглощения малоновой кислоты, холина хлорида, ЭР на их основе и трехкомпонентных смесей ЭР + вода, а также воды

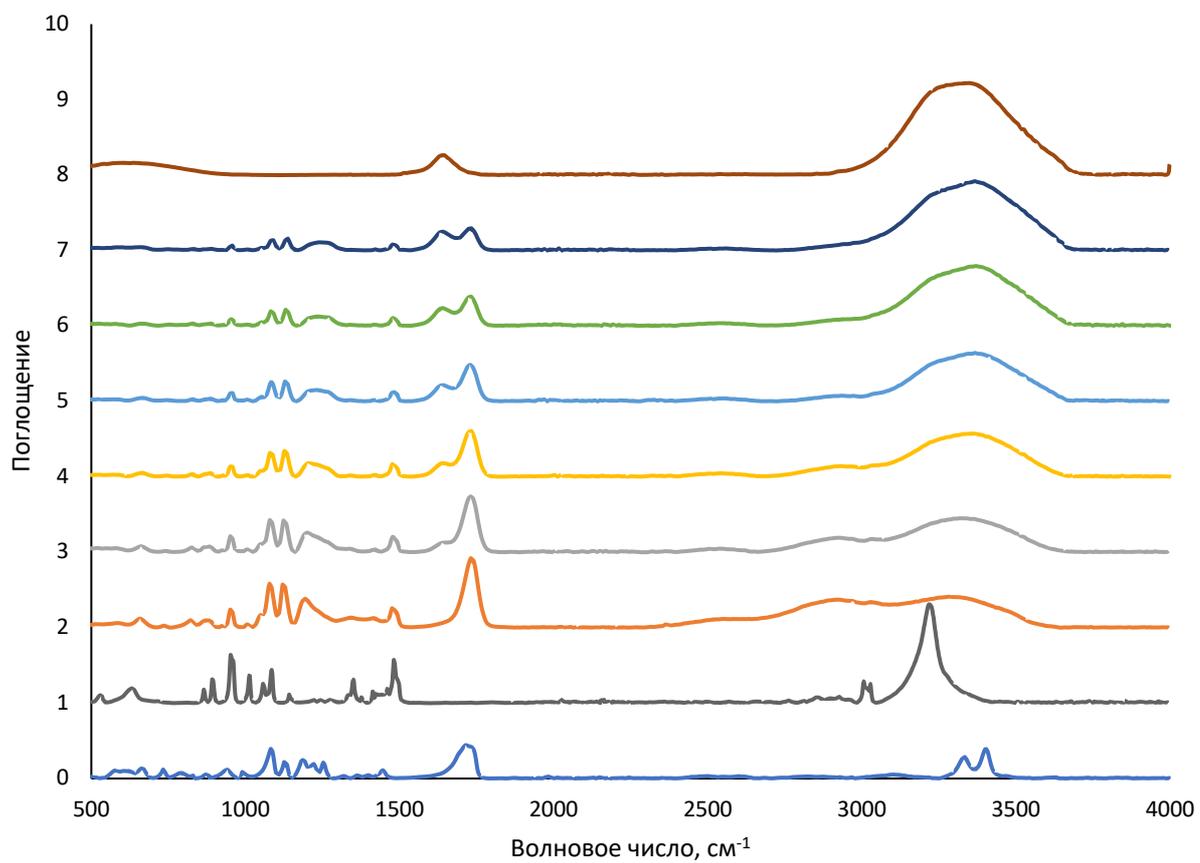


Рисунок 19 – ИК-спектр поглощения винной кислоты, холина хлорида, ЭР на их основе и трехкомпонентных смесей ЭР + вода, а также воды

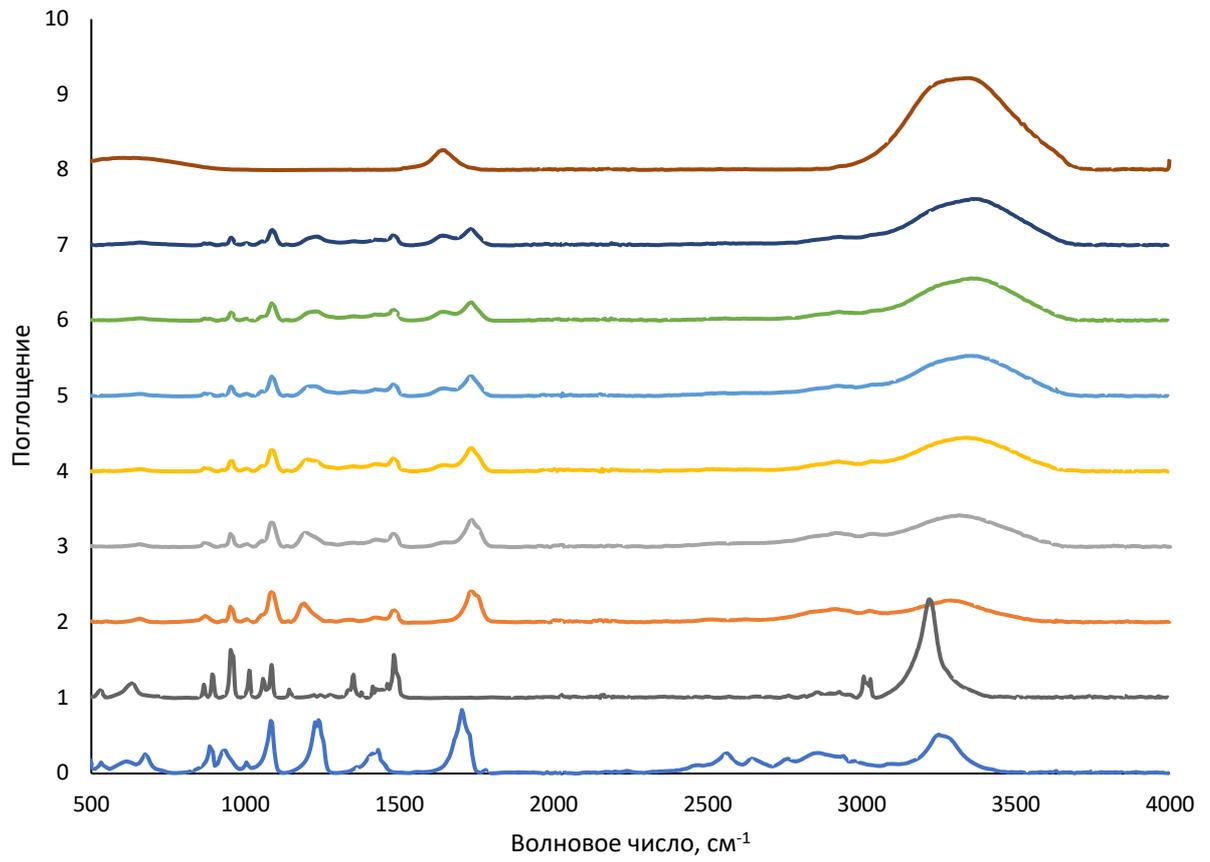


Рисунок 20 – ИК-спектр поглощения гликолевой кислоты, холина хлорида, ЭР на их основе и трехкомпонентных смесей ЭР + вода, а также воды

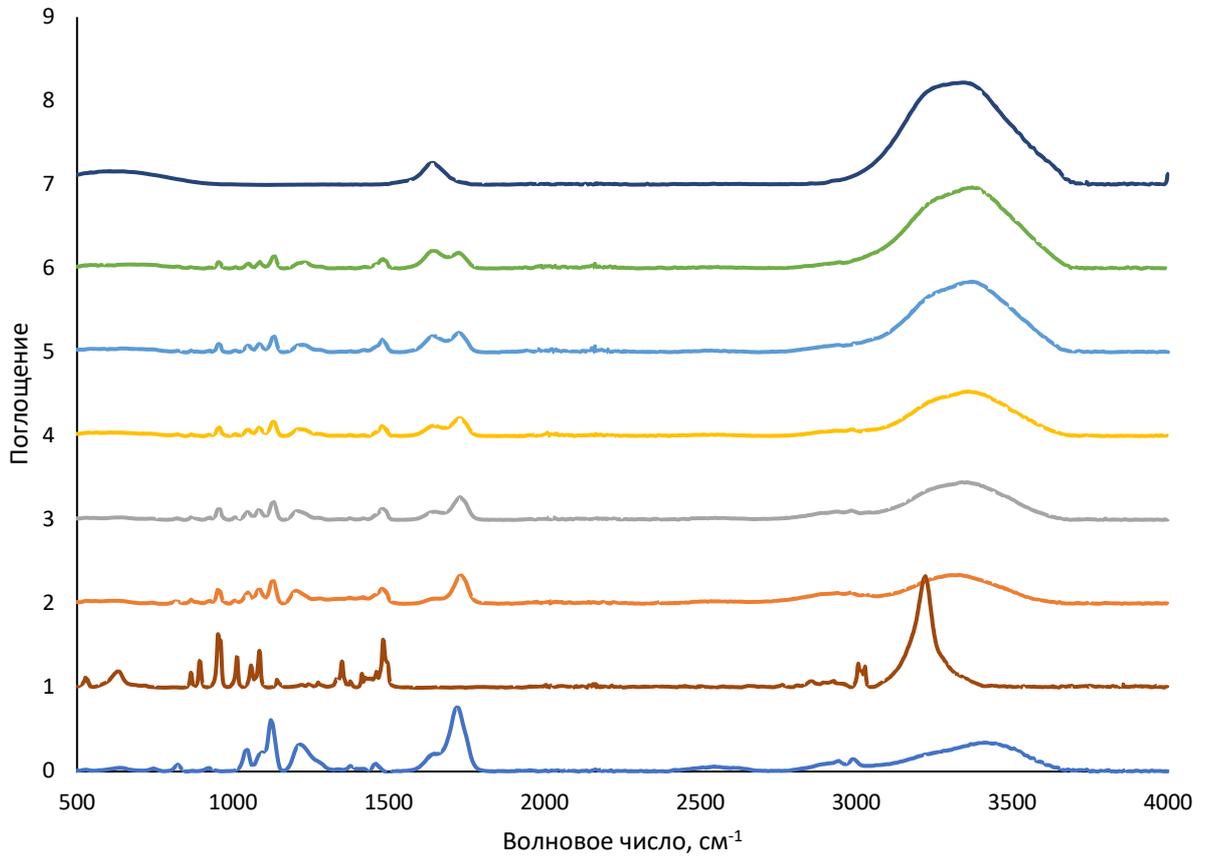


Рисунок 21 – ИК-спектр поглощения молочной кислоты, холина хлорида, ЭР на их основе и трехкомпонентных смесей ЭР + вода, а также воды

В Таблице 9 показаны изменения положения полос поглощения основных функциональных групп яблочной кислоты и холина хлорида при образовании эвтектического растворителя на их основе, а также при добавлении в данную смесь воды. Добавление воды во всех случаях не приводит к существенному изменению положения максимумов полос, что может указывать на незначительное влияние воды на взаимодействие функциональных групп внутри эвтектического растворителя. При добавлении воды наибольшие изменения наблюдаются в районе 1636 см^{-1} и $3000\text{--}3500\text{ см}^{-1}$, что связано с образованием новых водородных связей между водой и компонентами ЭР. Однако положение полос поглощения, соответствующих гидроксильным и карбоксильным группам кислоты и холина, не изменяется. Также нет резких изменений положения любых полос, что указывает на постепенное вхождение воды в структуру ЭР, что не приводит к радикальному изменению структуры. Таким образом, в данном случае нельзя сказать, что при

определенном содержании воды образуется водный раствор компонентов ЭР в результате разложения структуры ЭР под действием воды. Мы предполагаем, что вода включается в структуру ЭР без ее разрушения. Данные процессы наблюдались при изучении всех исследованных ЭР на основе холина хлорида и кислот во всем изучено диапазоне содержания воды. Таким образом, в случае использования ИК-спектрометрии в диапазоне от 0 до 50 % воды невозможно выделить диапазон концентраций воды, при которых ЭР переходит в водный раствор его компонентов. Поэтому для более детального изучения процессов, протекающих при введении воды в структуры ЭР были использованы дополнительные физико-химические методы.

Таблица 9 – Изменение положения полос поглощения в эвтектическом растворителе на основе яблочной кислоты, по сравнению с исходными соединениями и в смесях с водой

Связь	Яблочная кислота, см ⁻¹	Хлорид холина, см ⁻¹	ЭР, см ⁻¹	ЭР (10 % H ₂ O), см ⁻¹	ЭР (20 % H ₂ O), см ⁻¹	ЭР (30 % H ₂ O), см ⁻¹	ЭР (40 % H ₂ O), см ⁻¹	ЭР (50 % H ₂ O), см ⁻¹
C=O	1737	–	1721	1721	1719	1718	1720	1719
C=O	1680	–	1721	1721	1719	1718	1720	1719
-CH ₂ , C–OH	–	1481	1477	1477	1477	1477	1478	1478
-CH ₂ , -OH	1441	–	1414	1414	1413	1415	1416	1416
-OH, C=O	1357	–	1348	1346	1349	1349	1351	1352
-CH ₂	1177	–	1165	1177	1176	1181	1184	1186
C–OH	–	1141	1099	1102	1104	1105	1106	1107
CH ₂	1097	–	1047	1047	1048	1048	1049	1049
CH ₂ –CH ₂ –O	–	1011	1004	1004	1005	1005	1006	1006
C–C, C=O	949	–	952	951	951	952	952	953
C=O, C–C	880	–	864	864	865	865	865	866
-C-C-O	664	–	626	630	626	612	615	618

В первую очередь было исследовано влияние воды на плотность и вязкость ЭР, так как эти параметры характеризуют большинство процессов с использованием ЭР, в том числе экстракционные процессы. Как видно из полученных данных (Рисунок 22), в безводных системах значения вязкости значительно выше, чем в ЭР, содержащих воду. Например, добавление 10 масс. % воды в ЭР, состоящий из хлорида холина и лимонной кислоты, уменьшает вязкость системы более чем в 1200 раз. Таким образом, воду можно использовать для тонкой настройки свойств ЭР. Высокая вязкость ЭР объясняется наличием сильных

межмолекулярных взаимодействий, главным образом сети водородных связей в эвтектической смеси и, в меньшей степени, ван-дер-ваальсовых и электростатических взаимодействий, что приводит к снижению подвижности молекул в смеси и способствует увеличению вязкости. Внутреннее сопротивление молекул уменьшается с повышением температуры и содержанием воды в ЭР, что приводит к снижению вязкости. За образование водородных связей в исследованных ЭР отвечают карбоксильные и гидроксильные группы, присутствующие в этих соединениях. Поскольку молекула лимонной кислоты имеет три карбоксильные группы и одну гидроксильную в своей структуре, а молекула малоновой кислоты имеет только две карбоксильные, высокая вязкость может быть объяснена тем, что ЭР в случае лимонной кислоты образует большее число водородных связей. В связи с вышеизложенным, этот ЭР имеет более высокую вязкость, чем ЭР, содержащий другие кислоты. Графические зависимости вязкости исследованных ЭР от содержания воды не содержат резких изломов или резких изменений свойств. Такая зависимость вязкости не позволяет выявить концентрацию воды, при которой можно было бы констатировать переход от эвтектического растворителя к водному раствору компонентов ЭР. Таким образом, можно сделать вывод, что вязкость также изменяется постепенно за счет включения воды в структуру ЭР без ее радикального разрушения.

Плотность является еще одним из основных физических свойств жидкостей. Из полученных экспериментальных данных видно, что плотности всех ЭР лежат в диапазоне от 1,08 до 1,28 г/см³, в то время как с увеличением содержания воды значения плотности для всех систем уменьшаются линейно (Рисунок 23). Из представленных результатов следует, что реологические свойства ЭР, такие как плотность и вязкость, могут быть настроены с довольно высокой точностью путем изменения массовой доли воды в системе.

Электропроводность также является одним из важных параметров эвтектических растворителей. Эти растворители широко используются в области электроосаждения веществ и для изготовления электропроводных полимеров и материалов, а также в других областях электрохимии. В ряде работ было показано,

что проводимость связана, среди прочего, с вязкостью, и эта зависимость была подтверждена в данной работе. ЭР на основе лимонной кислоты без добавления воды был слишком вязким для измерения его электропроводности. Электропроводность варьируется в широком диапазоне от 0,002 до 79 мСм/см (Рисунок 24). Наиболее вязкие ЭР на основе лимонной, винной и яблочной кислот имеют более низкую проводимость, чем ЭР на основе молочной, малоновой и гликолевой кислот. Также важно отметить, что в случае проводимости наблюдается линейный диапазон изменений в случае малоновой, молочной и гликолевой кислот от 10 % до 50 % воды, и в случае лимонной, винной и яблочной от 20 % до 50 %. При этом во всем исследуемом диапазоне содержания воды невозможно выделить резкие изменения электропроводности, что также подтверждает постепенное изменение свойств. Это может свидетельствовать о том, что вода не разрушает сеть водородных связей, а включается в нее за счет образования новых связей, и в этом случае можно говорить о сохранении структуры эвтектического соединения. Таким образом было проведено комплексное исследование свойств эвтектических растворителей на основе хлорида холина и карбоновых кислот и их смесей с водой. Свойства эвтектических растворителей на основе кислот и их смесей с водой представлены в Таблице 10. Эти растворители были выбраны как часто используемые для решения различных задач аналитической, органической и технологической химии, в том числе в качестве экстрагентов. Исследованы такие свойства, как плотность, вязкость, проводимость, а также получены ИК-спектры. Было установлено, что все исследованные свойства изменяются постепенно без резких скачков, что может свидетельствовать о постепенном включении воды в структуру ЭР за счет образования новых водородных связей. Это позволяет тонко настраивать свойства ЭР, делая их пригодными для различных применений. В дальнейшем эти ЭР и их смеси с водой были использованы в данной работе в качестве экстрагентов. Полученные результаты были опубликованы в работе [250].

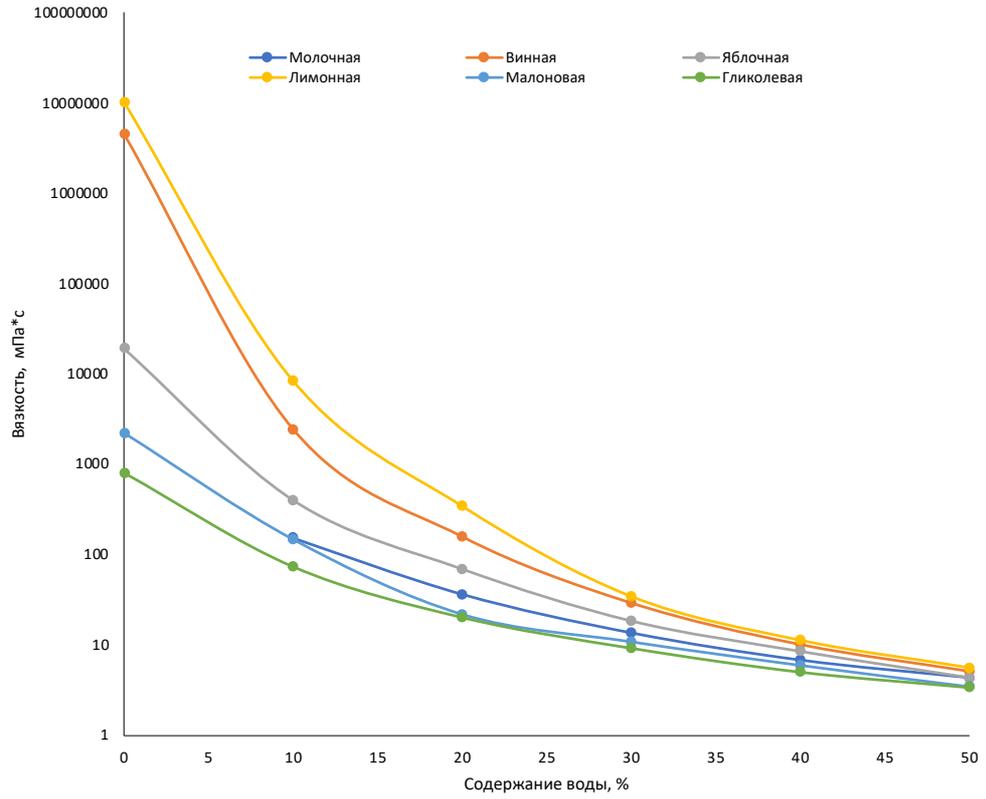


Рисунок 22 – Зависимость вязкости ЭР на основе карбоновых кислот от содержания воды (25 °С)

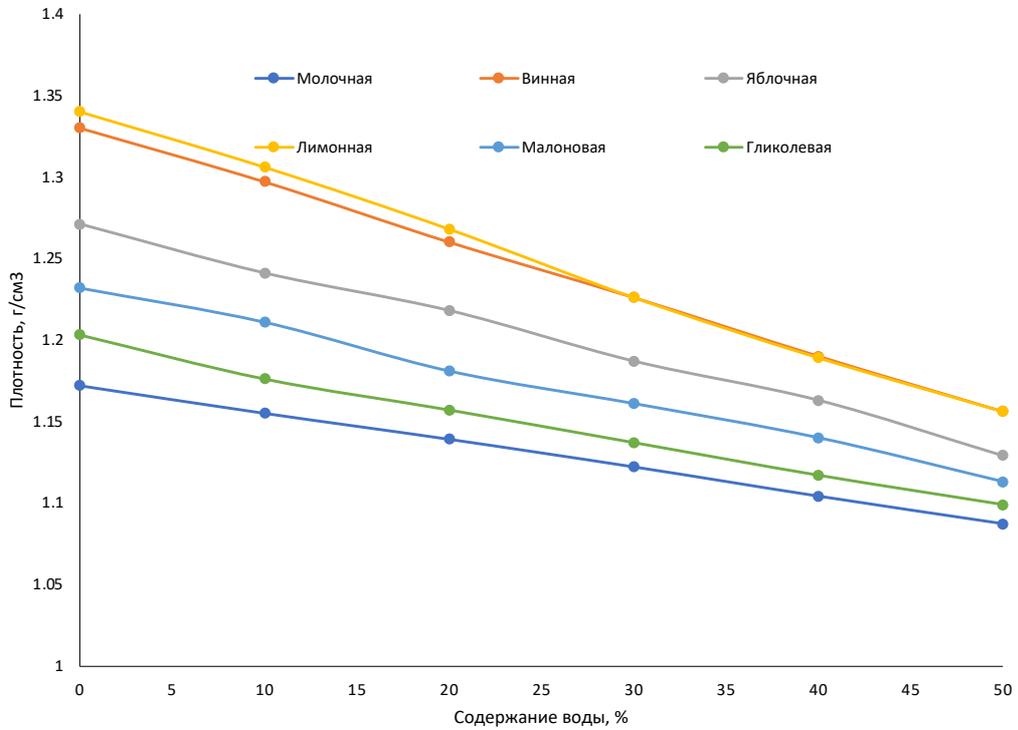


Рисунок 23 – Зависимость плотности ЭР на основе карбоновых кислот от содержания воды (25 °С)

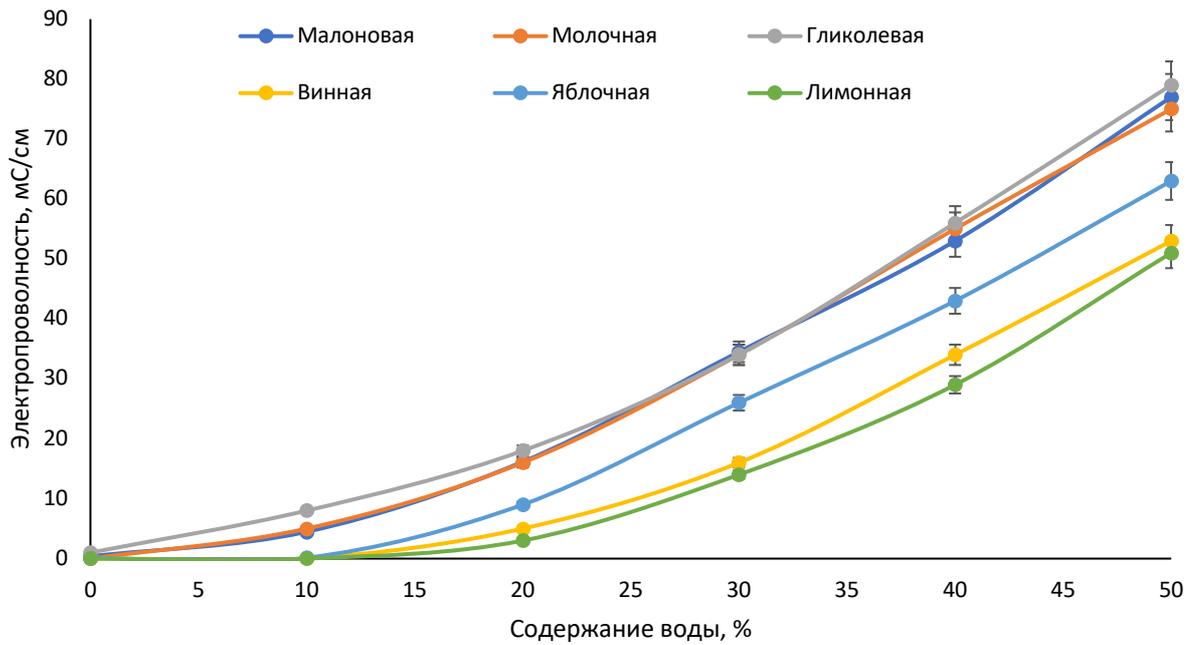


Рисунок 24 – Зависимость электропроводности ЭР на основе карбоновых кислот от содержания воды (25 °С)

Так как данные ЭР изготавливаются из водорастворимых соединений, они не могут быть использованы для извлечения аналитов из водных проб, что существенно ограничивает возможность использования данных ЭР в микроэкстракции. Поэтому в литературе были предложены новые ЭР, которые обеспечивали проведение микроэкстракционных процессов при анализе водных сред. К таким ЭР относится растворитель на основе холина хлорида и фенола [251], который в ряде работ был использован как экстрагент для реализации гомогенной жидкостной микроэкстракции.

Таблица 10 – Свойства эвтектических растворителей на основе кислот и их смесей с водой

Кислота в составе ЭР	Содержание воды, масс %					
	0	10	20	30	40	50
	Плотность, г/см ³ , 25 °С					
Молочная	1,172	1,155	1,139	1,122	1,104	1,087
Малоновая	1,232	1,211	1,181	1,161	1,140	1,113
Гликолевая	1,203	1,176	1,157	1,137	1,117	1,099
Винная	1,330	1,297	1,260	1,226	1,190	1,156
Яблочная	1,271	1,241	1,218	1,187	1,163	1,129
Лимонная	1,340	1,306	1,268	1,226	1,189	1,156
Вязкость, мПа·с, 25 °С						
Молочная	-	154	36	14	7	4
Малоновая	2208	147	22	11	6	3
Гликолевая	797	73	20	9	5	3
Винная	4504994	2436	157	29	10	5
Яблочная	19098	401	69	18	8	4
Лимонная	10099000	8327	342	34	11	5
Электропроводность, мС/см, 25 °С						
Молочная	-	5	16	34	55	75
Малоновая	0,4	4,5	16	34	53	77
Гликолевая	1	8	18	34	56	79
Винная	0,01	0,015	5	16	34	53
Яблочная	0,08	0,13	9	26	43	63
Лимонная	-	0,002	3	14	29	51

Для изготовления данного ЭР, хлорид холина используется в качестве акцептора водородной связи, а фенол выступает в качестве донора водородной связи. Концепция гомогенной жидкостной микроэкстракции на основе данного ЭР предполагает растворение ЭР в водной фазе пробы, что приводит к образованию гомогенного раствора. Затем к раствору добавляют апротонный растворитель, например ТГФ, что приводит к формированию несмешивающейся с водой фазы и образованию двухфазной системы. В ряде работ было показано, что такие ЭР стабильны в водной фазе, и этот подход успешно использовали для экстракции различных неорганических и органических аналитов из водных проб (Таблица 11).

В этих работах утверждается, что массоперенос выполняется в фазу ЭР. Однако высокая растворимость холина хлорида (650 г/л) и его способность к диссоциации поставили под сомнение стабильность данных экстрагентов при контакте с водной фазой. Поэтому в данной работе было исследовано поведение данного ЭР при контакте с водной фазой. Для исследования стабильности гидрофильного ЭР на основе холина хлорида (акцептор водородной связи) в качестве донора водородной связи был использован фенол (мольное соотношение от 1/1 до 1/4). После смешивания данного ЭР с водной фазой при объемном соотношении 1/10 (ЭР/вода) для формирования органической фазы вводили тетрагидрофуран (апротонный полярный растворитель). При этом наблюдалось образование двухфазной системы. Смесь центрифугировали и анализировали фазы по отдельности. Состав полученных фаз устанавливали методами ГХ-ПИД для определения фенола и ТГФ, ИХ-КД - для определения холина хлорида, а воду определяли методом кулонометрического титрования по Карлу Фишеру. Также фазу ЭР до экстракции и органическую фазу, полученную после экстракции, анализировали методом ТГА.

Таблица 11 – Примеры применения ЭР на основе хлорида холина и фенола в жидкостной микроэкстракции

Аналит	Образец	Метод анализа	Время экстракции, мин	Предел обнаружения, мкг/л	Степень извлечения, %	Ссылка
Соединения селена	Вода	Электротермическая атомно-абсорбционная спектрометрия	4	0,004–0,0015	98	[252]
Соединения мышьяка	Вода	Электротермическая атомно-абсорбционная спектрометрия	5	0,001–0,0033	98	[253]
Куркумин	Пищевые продукты	Молекулярная спектрофотометрия	10	2,86	95	[254]
Метадон	Вода и биологические образцы	Газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектором	4	0,7	99	[255]
Ванадий	Пищевые продукты	Электротермическая атомно-абсорбционная спектрометрия	10	0,025	99	[256]
Полициклические ароматические углеводороды	Вода	ВЭЖХ-УФ	20	0,02–6,8	99	[257]
Сульфониламиды	Вода	ВЭЖХ-УФ	45	1,2–2,3	99	[258]
Кобальт	Вода	Пламенная атомно-абсорбционная спектрометрия	17	1,1	98	[259]
Алюминий	Вода и пищевые продукты	Электротермическая атомно-абсорбционная спектрометрия	7	0,032	99	[260]
Малахитовый зеленый	Вода	Молекулярная спектрофотометрия	8	3,6	98	[251]
Свинец	Вода и пищевые продукты	Электротермическая атомно-абсорбционная спектрометрия	10	600	98	[261]
Кадмий	Вода и пищевые продукты	Электротермическая атомно-абсорбционная спектрометрия	9	0,0002	98	[262]
Кофеин	Напитки	ВЭЖХ-УФ	3	30	95	[263]

Установлено, что фенол и тетрагидрофуран являются основными компонентами выделившейся органической фазы (массовое содержание компонентов было равно 57 ± 5 % и 38 ± 4 % соответственно). Было установлено, что она содержит $5,2 \pm 0,7$ % воды. Хлорид холина в органической фазе не был обнаружен. Таким образом, выделенная органическая фаза содержит фенол, тетрагидрофуран и воду и не является исходным ЭР. Для подтверждения различий между исходным ЭР (хлорид холина и фенол в мольном соотношении 1/4) и фазой, полученной после процедуры экстракции, проводили исследование методом ТГА. Для этого 500 мкл ЭР или 350 мг фенола растворяли в 5 мл воды и вводили 500 мкл

тетрагидрофурана. После этого каждую верхнюю фазу, полученную в присутствии ЭР и в присутствии фенола, и исходный ЭР исследовали методом ТГА в диапазоне температур от 30 до 350 °С со скоростью нагрева 5 °С/мин. Было показано (Рисунок 25), что результаты ТГА сопоставимы для верхних фаз, полученных в присутствии ЭР и в присутствии фенола, и отличаются от исходного ЭР.

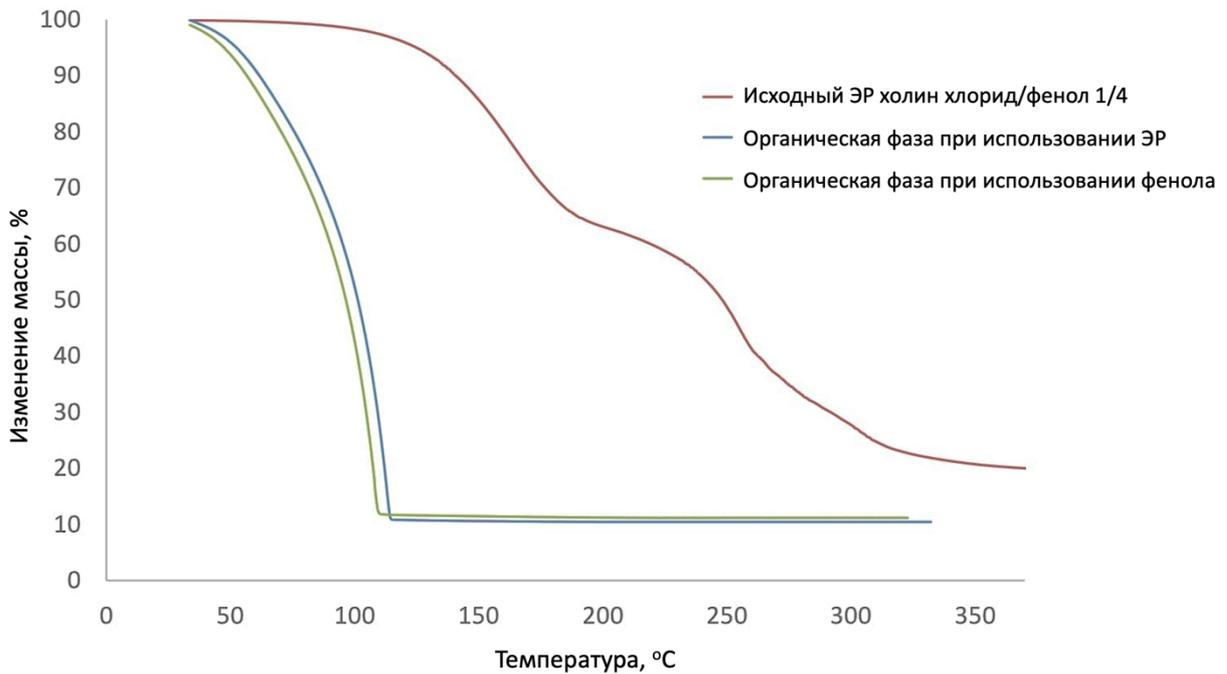


Рисунок 25 – Кривая ТГА исходного ЭР (хлорид холина/фенол в мольном соотношении 1/4). Кривая ТГА фазы, полученная при использовании эвтектического растворителя. Кривая ТГА, полученная при использовании фенола

Таким образом, разложение ЭР в водной фазе было подтверждено. Для более детального исследования механизма разложения данного ЭР было изучено влияние соотношения фенола и хлорида холина в ЭР на состав выделенной фазы (Рисунок 26). Молярное соотношение хлорида холина и фенола варьировали от 1/1 до 1/4. Было показано, что соотношение не оказывает значительного влияния на состав фазы. Во всех случаях она состояли из фенола, ТГФ и воды. Также было исследовано влияние соотношения ЭР и водной фазы на состав полученной органической фазы. Для этого объем водной фазы изменялся от 2 до 10 мл, а объем

ЭР (хлорид холина и фенол в соотношении 1/4) оставался постоянным (500 мкл). Соотношение ЭР и водной фазы таким образом варьировалось от 1/4 до 1/20 соответственно. Во всех случаях выделанная органическая фаза также содержала фенол, тетрагидрофуран и воду, и соотношение не оказывало значительного влияния на состав фазы (Рисунок 27). На последнем этапе было изучено влияние объема тетрагидрофурана на состав полученной фазы. Для изучения этого эффекта объем водной фазы оставался постоянным (5 мл), а объем ЭР (хлорид холина и фенол в соотношении 1/4) составлял 500 мкл. Объем тетрагидрофурана изменяли от 250 до 1000 мкл. Установлено, что среди всех изученных параметров объем тетрагидрофурана наиболее существенно влиял на состав полученной органической фазы. Увеличение содержания тетрагидрофурана приводило к увеличению концентрации фенола в органической фазе. Содержание тетрагидрофурана в органической фазе значительно не изменялось (Рисунок 28).

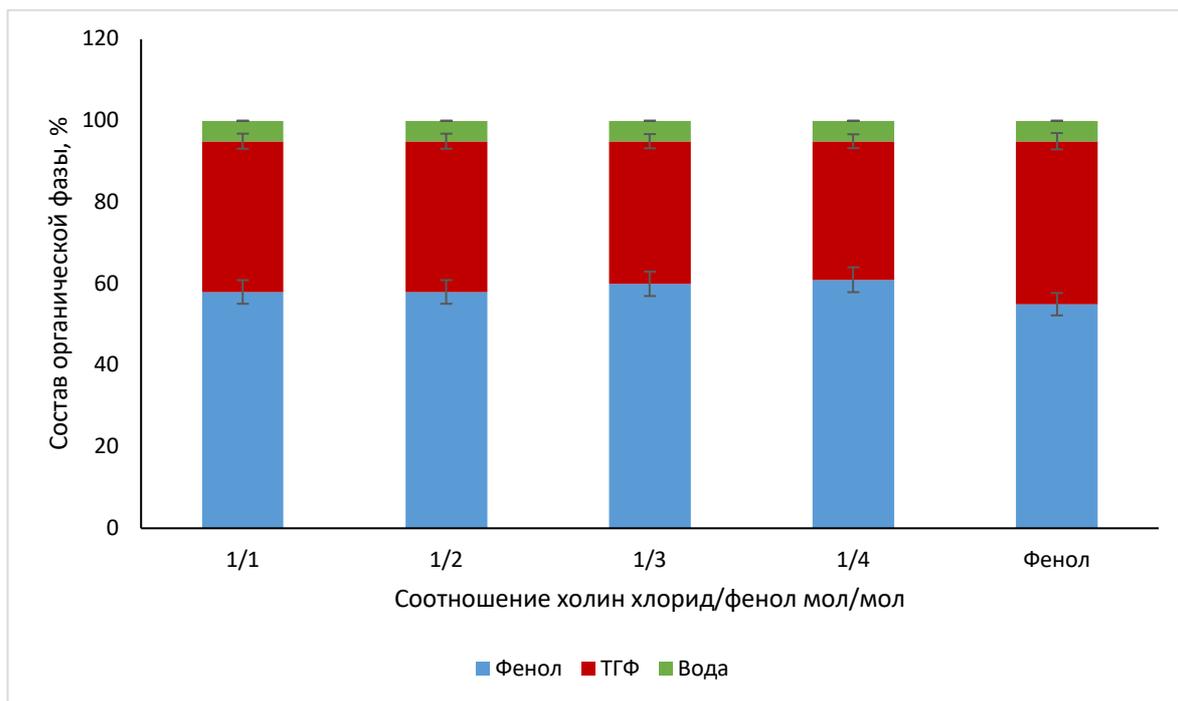


Рисунок 26 – Влияние исходного состава ЭР на состав полученной органической фазы (объем ЭР – 0,5 мл, объем ТГФ – 0,5 мл, объем воды – 5 мл)

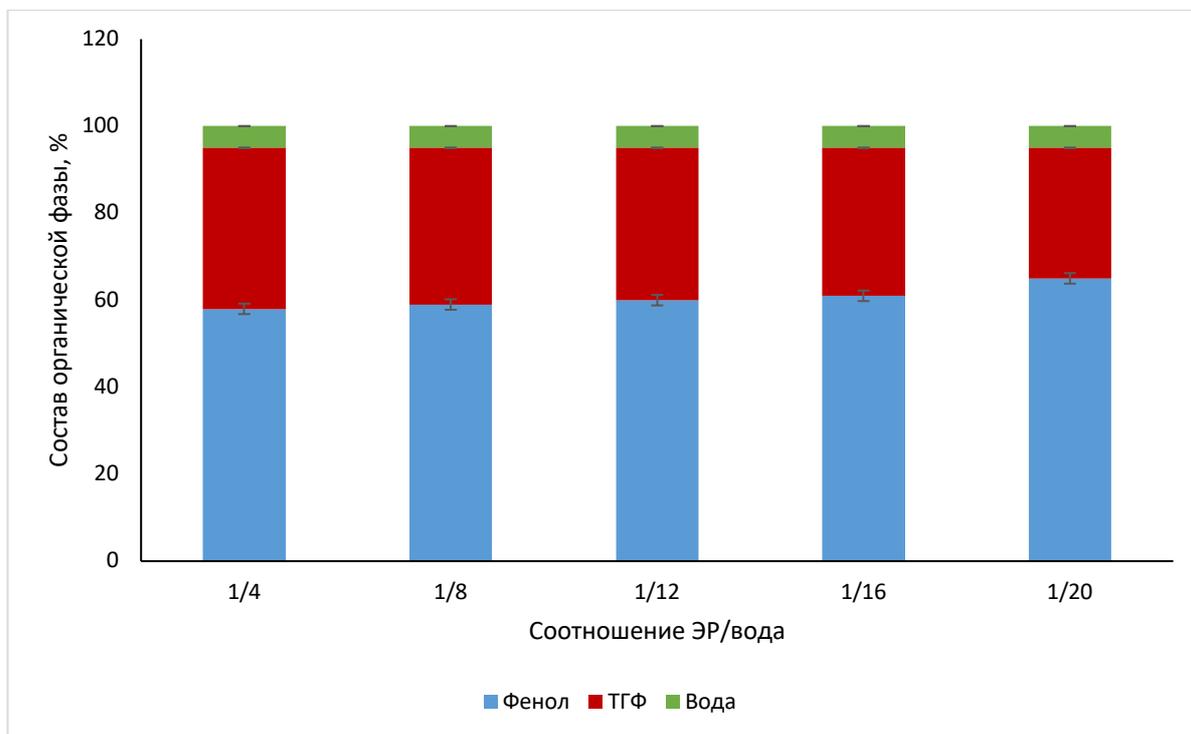


Рисунок 27 – Влияние объемного соотношения ЭР/вода на состав полученной органической фазы (объем ЭР – 0,5 мл, объем ТГФ – 0,5 мл)

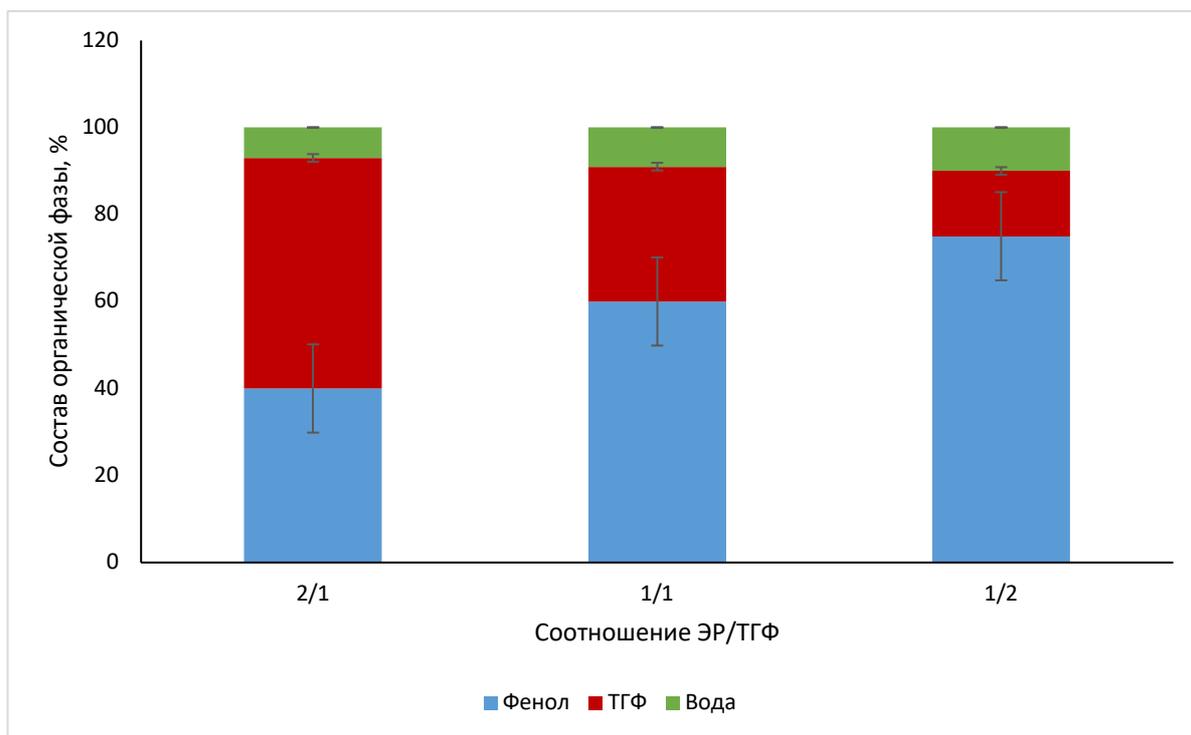


Рисунок 28 – Влияние объемного соотношения ЭР/ТГФ на состав полученной органической фазы (объем ЭР – 0,5 мл, объем воды – 5 мл)

Таким образом, исследован процесс разрушения гидрофильного ЭР на основе хлорида холина и фенола в присутствии тетрагидрофурана. Было показано, что ЭР на основе хлорида холина и фенола разлагается в водной фазе, и полученная органическая фаза содержит тетрагидрофуран, фенол и воду. С этой точки зрения ЭР на основе хлорида холина и фенола не может рассматриваться как экстрагент, и многочисленные статьи (Таблица 11) содержат неверные представления о механизме жидкостной микроэкстракции с использованием данного ЭР. Подобные заблуждения могут возникать и для других ЭР, которые содержат в своем составе как минимум одно гидрофильное водорастворимое соединение, поэтому в случае использования ЭР в качестве экстрагентов следует обращать особое внимание на состав фаз до и после экстракции, чтобы избежать подобных ошибок. Полученные результаты были опубликованы в работе [264].

Следующим поколением экстрагентов, предложенных в литературе, стали «гидрофобные» ЭР на основе четвертичных аммонийных соединений или терпеноидов в качестве акцептора водородной связи и жирных кислот в качестве доноров. В этих работах в качестве акцепторов водородных связей использовали четвертичные аммонийные соли, такие как тетрабутиламмоний хлорид, метилтриоктиламмоний хлорид, тетрагептиламмоний хлорид, тетраоктиламмоний хлорид, тетраоктиламмоний бромид, метилтриоктиламмоний бромид, а в качестве донора водородной связи – декановая кислота. Однако уже в первых работах авторы сами отметили потенциальную нестабильность этих ЭР при контакте с водной фазой из-за растворения четвертичных аммонийных солей в воде и воды в самих эвтектических растворителях. Позже в литературе был представлен еще один класс гидрофобных ЭР, основанных на натуральных терпеноидах, таких как ментол и тимол, в сочетании с жирными кислотами. Они проявляли большую стабильность за счет высокой гидрофобности терпеноидов. Стабильность таких растворителей привлекла значительное внимание исследователей. Однако в большинстве работ, где данные гидрофобные ЭР использовали в качестве экстрагентов, авторы преимущественно сосредоточивались на достижении высоких коэффициентов концентрирования, используя высокие соотношения

между водной фазой и ЭР, что также потенциально может привести к разрушению данных ЭР. Однако поведение гидрофобных ЭР при различных соотношениях фаз не было систематически изучено.

В рамках данной работы для изучения устойчивости подобных ЭР были изготовлены двадцать экстракционных систем на основе ментола, тимола, тетрабутиламмония бромида и тетраоктиламмония бромида и жирных кислот (гексановой, гептановой, октановой, нонановой и декановой кислот). Их состав до и после контакта с водой был детально исследован. На первом этапе были приготовлены соответствующие ЭР. Акцептор водородной связи (тимол, ментол, тетрабутиламмоний бромид или тетраоктиламмоний бромид) смешивали с соответствующей жирной кислотой (гексановая, гептановая, октановая, нонановая и декановая кислоты) в мольных соотношении 1/2 и смеси нагревали при 60 °С при перемешивании до получения прозрачной вязкой жидкости.

Для исследования устойчивости полученных растворителей 1 мл исследуемого ЭР смешивали с различными объемами воды (от 1 до 100 мл). Смесь перемешивали в течение одного часа, затем центрифугировали в течение 10 мин. при 6000 об/мин, и водные и органические фазы отбирали и анализировали. Органическую фазу разбавляли в 50 раз изопропиловым спиртом и анализировали методом ГХ-МС для определения концентрации терпеноидов. Для определения жирных кислот полученную после контакта с водой фазу ЭР растворяли в изопропиловом спирте и полученный раствор титровали спиртовым раствором гидроксида натрия (0,05 моль/л) в присутствии фенолфталеина. Органическую фазу также анализировали методом Карла Фишера для определения содержания воды. Водную фазу анализировали методом ионной хроматографии с кондуктометрическим детектором для определения содержания четвертичных аммонийных солей.

Стабильность ЭР на основе четвертичных аммонийных солей

ЭР, состоящие из тетраоктиламмоний бромиды или тетрабутиламмоний бромиды в качестве акцепторов водородных связей и жирных кислот (гексановая, гептановая, октановая, нонановая и декановая кислоты) в качестве доноров водородных связей, готовили в мольном соотношении 1/2. Выбранное соотношение компонентов обеспечивало жидкое состояние данных ЭР при комнатной температуре. Первоначально все приготовленные ЭР смешивали с водой в объемном соотношении 1/1 и полученные фазы исследовали в соответствии с описанной процедурой. Полученные результаты для ЭР, состоящих из четвертичных аммонийных соединений, представлены на Рисунках 29 и 30. Обнаружено, что в случае использования обоих четвертичных аммонийных соединений состав полученной органической фазы отличался от исходного состава ЭР. Все полученные органические фазы содержали четвертичные аммонийные соли, жирные кислоты и значительное количество воды. В этом случае полученные органические фазы можно считать трехкомпонентными ЭР, содержащими четвертичную аммонийную соль, жирную кислоту и воду. Вода как компонент ЭР в данном случае может влиять на полярность, а также уменьшать вязкость растворителя, как было показано в предыдущих исследованиях. Такие трехкомпонентные ЭР могут быть более эффективными, чем двухкомпонентные ЭР при их использовании в качестве экстрагентов для извлечения полярных аналитов.

Для достижения высоких коэффициентов концентрирования объем водной фазы должен быть больше объема экстрагента. Поэтому было исследовано влияние соотношения фаз на стабильность изучаемых ЭР. Для этого в качестве модельной системы исследовали стабильность ЭР на основе выбранных четвертичных аммонийных соединений и октановой кислоты. Объемное соотношение фаз (ЭР/вода) варьировали от 1/1 до 1/100.

Установлено, что при увеличении соотношения фаз содержание тетрабутиламмония бромиды в органической фазе существенно уменьшалось из-за его большей растворимости в воде (Рисунок 31). Когда соотношение фаз ЭР и

водной фазы было выше 1/5, органическая фаза содержала всего 6 мольных % тетрабутиламмония бромида, что существенно отличается от исходного состава ЭР. При увеличении соотношения фаз содержание воды в органической фазе также уменьшалось с 55 до 27 мольных %. Таким образом, состав органической фазы, полученной после смешивания ЭР на основе тетрабутиламмония бромида с водой, зависит от соотношения фаз.

В случае ЭР на основе тетраоктиламмония бромида состав полученной органической фазы существенно не зависел от соотношения фаз (Рисунок 30). Во всех случаях вода действовала как компонент трехкомпонентного ЭР, ее содержание составляло в среднем 37 мольных %. Содержание тетраоктиламмония бромида во всех исследованных органических фазах составляло 22 мольных %. Таким образом ЭР на основе тетраоктиламмония бромида показали более высокую стабильность при контакте с водной фазой по сравнению с ЭР на основе тетрабутиламмония бромида.

Стабильность ЭР на основе терпеноидов

В отличие от четвертичных аммонийных солей, ментол и тимол практически не диссоциируют (pK_a 19,55 для ментола и 10,6 для тимола) и менее растворимы в воде (ментол 0,456 г/л, тимол 0,9 г/л). Эти свойства могут обеспечить более высокую стабильность ЭР на их основе при контакте с водной фазой. Для подтверждения этого были приготовлены ЭР, состоящие из ментола или тимола в качестве акцепторов водородных связей и жирных кислот (гексановая, гептановая, октановая, нонановая и декановая кислоты) в мольном соотношении 1/2. Выбранное мольное соотношение компонентов обеспечивало жидкое состояние ЭР при комнатной температуре. ЭР и воду смешивали в объемном соотношении 1/1 и полученные после разделения фазы исследовали в соответствии с описанной процедурой. Полученные результаты для ЭР, состоящих из тимола и ментола, представлены на Рисунке 31.

Содержание воды в органических фазах на основе терпеноидов было почти в два раза меньше, чем в органических фазах на основе четвертичных аммонийных солей. Это объясняется большей гидрофобностью акцептора водородной связи, и,

как следствие, большей гидрофобностью итогового ЭР. При увеличении длины углеводородной цепи жирных кислот (от C_6 до C_{10}) содержание воды в органических фазах уменьшалось с 30 до 22 мольных % для ЭР на основе тимола (Рисунок 32) и с 23 до 16 мольных % для ЭР на основе ментола (Рисунок 33). ЭР на основе тимола содержали больше воды, чем ЭР на основе ментола, из-за более высокой полярности тимола. Содержание терпеноидов во всех полученных органических фазах было одинаковым (26 ± 2 мольных %) и не зависело от типа жирной кислоты. Октановая кислота также была выбрана для изучения влияния соотношения фаз ЭР/вода. Объемное соотношение фаз (ЭР/вода) варьировалось от 1/1 до 1/100. После смешивания и разделения фаз были исследованы органические и водные фазы по отдельности. Во всех исследованных гидрофобных ЭР было обнаружено значительное содержание воды (Рисунок 34). Таким образом, также происходила трансформация двухкомпонентных ЭР с образованием трехкомпонентных растворителей. Показано, что состав полученных органических фаз практически не зависел от соотношения ЭР и воды в случае обоих терпеноидов (Рисунок 34). Эти результаты подтвердили более высокую стабильность ЭР на основе терпеноидов по сравнению с растворителями на основе тетрабутиламмония бромида.

Таким образом, показано, что ЭР на основе тетрабутиламмония бромида и жирных кислот разрушаются при контакте с водной фазой уже при объемном соотношении 1/5 из-за растворения и диссоциации соли в водной фазе, и экстракция протекает не в фазу ЭР, а в фазу, обогащенную жирной кислотой, образующуюся в результате разрушения ЭР. Также было показано, что после контакта гидрофобных ЭР на основе тетраоктиламмония бромида и терпеноидов с водой образуются стабильные трехкомпонентные ЭР. Состав и стабильность этих растворителей практически не зависит от полярности донора водородной связи (жирной кислоты) и соотношения фаз. Содержание воды в трехкомпонентных ЭР зависит от полярности прекурсоров и варьируется от 16 мольных % для ментола до 62 мольных % для тетрабутиламмония бромида. Высокое содержание воды в фазе ЭР может как улучшить экстракционные свойства, например, за счет более

высокой полярности полученного растворителя или за счет образования водородных связей с аналитом, так и ухудшить процессы экстракции менее полярных аналитов. Полученные результаты опубликованы в работе [265].

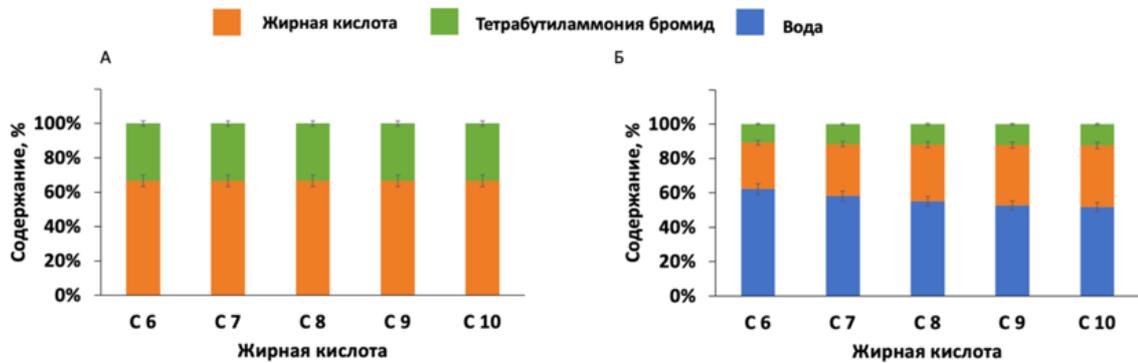


Рисунок 29 – Состав ЭР на основе тетрабутиламмония бромида и жирных кислот до (А) и после (Б) контакта с водной фазой (объемное соотношение фаз 1/1)

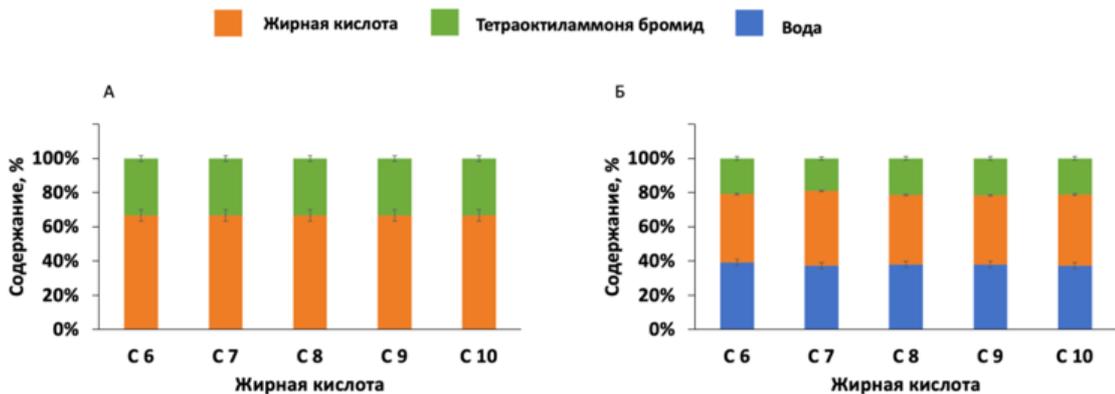


Рисунок 30 – Состав ЭР на основе тетраоктиламмония бромида и жирных кислот до (А) и после (Б) контакта с водной фазой (объемное соотношение фаз 1/1)

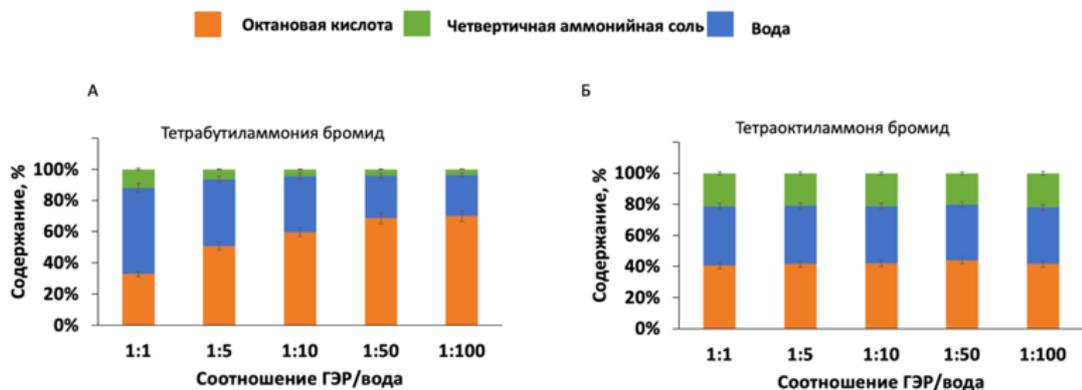


Рисунок 31 – Состав ЭР на основе тетрабутиламмония бромида и октановой кислоты (А); тетраоктиламмония бромида и октановой кислоты (Б) после контакта с водной фазой при различном объемном соотношении фаз (объем ЭР – 1 мл)

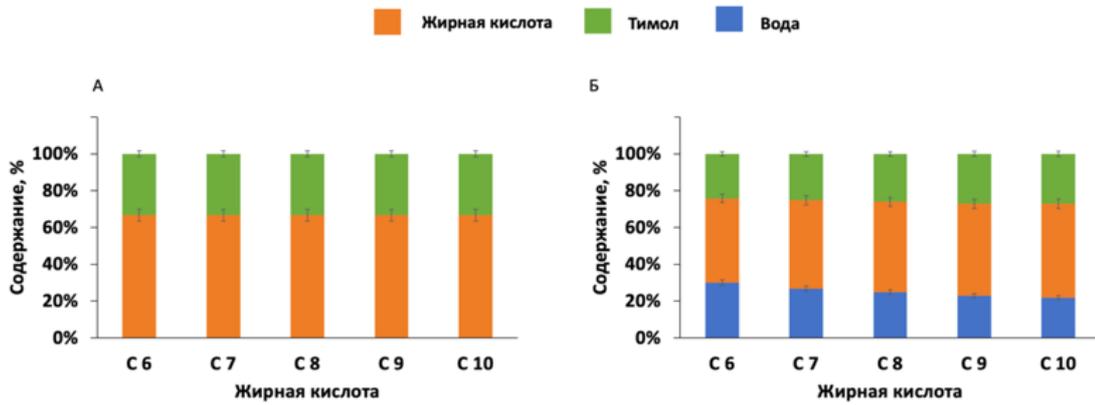


Рисунок 32 – Состав ЭР на основе тимола и жирных кислот до (А) и после (Б) контакта с водной фазой (объемное соотношение фаз 1/1)

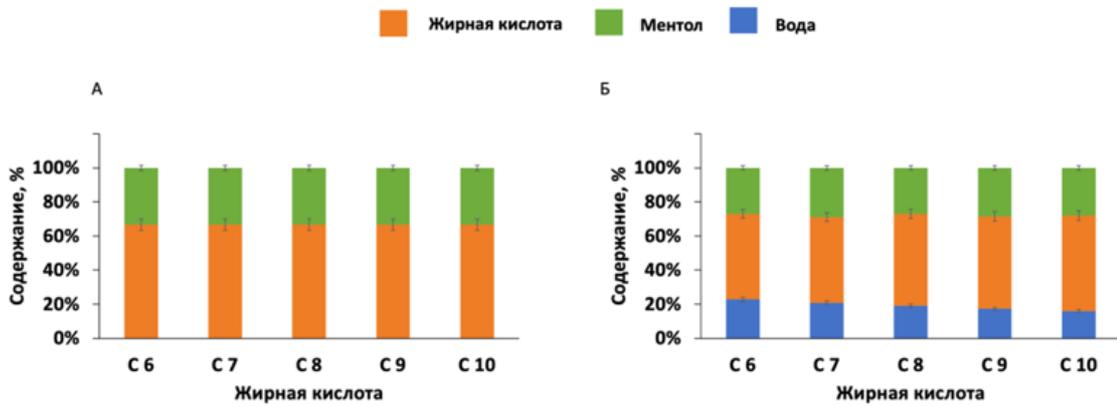


Рисунок 33 – Состав ЭР на основе ментола и жирных кислот до (А) и после (Б) контакта с водной фазой (объемное соотношение фаз 1/1)

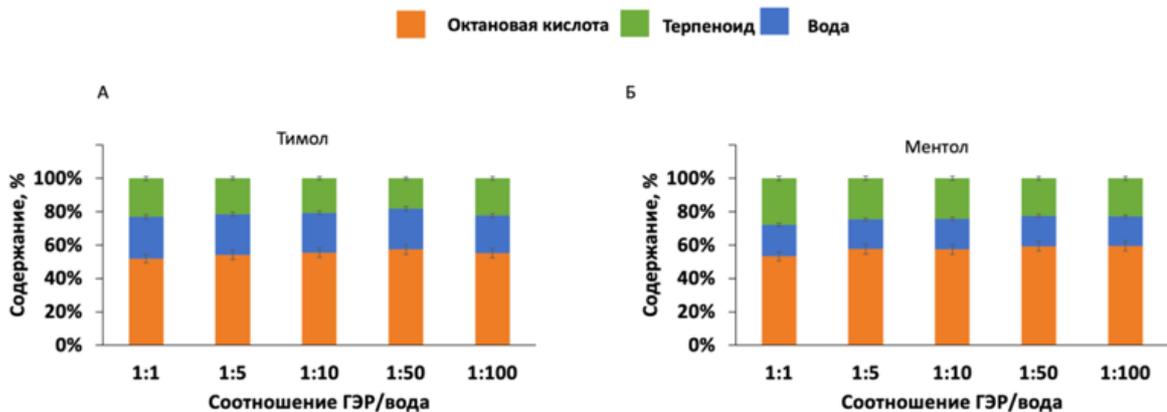


Рисунок 34 – Состав ЭР на основе тимола и октановой кислоты (А); ментола и октановой кислоты (Б) после контакта с водной фазой при различном объемном соотношении фаз (объем ЭР – 1 мл)

На основании проведенных исследований стабильности различных ЭР при контакте с водной фазой была предложена их новая классификация, в соответствии с которой ЭР можно разделить на три класса: гидрофобные (1), квазигидрофобные (2), гидрофильные (3). Используемые в данной работе ЭР в соответствии с предложенной классификацией представлены в Таблице 12. Предложенная классификация ЭР представлена в обзорной статье [266]. Классификация позволяет более обоснованно выбирать конкретные ЭР для решения задач химического анализа, например при реализации процессов жидкостной микроэкстракции. В данной работе изученные гидрофильные ЭР нашли применение в качестве экстрагентов для ЖМЭ из органических жидкостей и в качестве растворителей-диспергаторов в ДЖМЭ из водных растворов; квазигидрофобные ЭР – для ДЖМЭ из водных/органических растворов без применения растворителей-диспергаторов, гидрофобные ЭР – для реализации ДЖМЭ из водных растворов, в том числе основанной на *in situ* образовании экстрагента в присутствии прекурсоров ЭР.

Таблица 12 – Используемые ЭР для жидкостной микроэкстракции

Гидрофильные ЭР	
<i>Компонент 1 (гидрофильный)</i>	<i>Компонент 2 (гидрофильный)</i>
холин хлорид	лимонная, винная, яблочная, малоновая, молочная, гликолевая, адипиновая, аскорбиновая, борная, малеиновая, муравьиная, уксусная, щавелевая, янтарная кислоты, бутандиол, глицерин, триэтиленгликоль, этиленгликоль, фенол, мочевины, тиомочевина, глюкоза, мальтоза, сахароза, сорбит, фруктоза
тетрабутиламмония бромид	муравьиная и уксусная кислоты, глицерин, этиленгликоль
Квазигидрофобные ЭР	
<i>Компонент 1 (гидрофильный)</i>	<i>Компонент 2 (гидрофобный)</i>
холин хлорид	бензамид, бензойная, галловая, миндальная кислоты, циклогексанол
тетрабутиламмония бромид	гексанол, гептанол, октанол, деканол, гексановая, гептановая, октановая, нонановая, декановая кислоты
муравьиная и уксусная кислоты	тимол и ментол
Гидрофобные ЭР	
<i>Компонент 1 (гидрофобный)</i>	<i>Компонент 2 (гидрофобный)</i>
тимол и ментол	гексановая, гептановая, октановая, нонановая, декановая кислоты
тетраоктиламмония бромид	гексановая, гептановая, октановая, нонановая, декановая кислоты

Глава 4. Дисперсионная жидкостная микроэкстракция с применением эвтектических растворителей

Экспрессным методом пробоподготовки является ДЖМЭ, основанная на диспергировании экстрагента в пробе с образованием эмульсии, в которой быстро устанавливается межфазное равновесие за счет резкого увеличения площади контакта фаз. В ДЖМЭ смесь неполярного экстрагента и растворителя-диспергатора, неограниченно смешивающегося с ним, и пробой быстро вводят в анализируемый раствор, в результате чего фаза экстрагента равномерно распределяется в нем в виде эмульсии. Дальнейшее разделение фаз достигается центрифугированием, а также путем кристаллизации экстракта при охлаждении экстракционной системы. Ограничением классической ДЖМЭ является необходимость применения растворителей-диспергаторов. Как правило, они представляют собой полярные органические растворители (например, метанол, ацетонитрил), в присутствии которых увеличивается растворимость целевых аналитов в водной фазе и снижаются их степени извлечения. Для устранения данных ограничений в рамках данной работы были предложены варианты реализации ДЖМЭ с использованием ЭР.

Как было показано в разделе об изучении устойчивости ЭР, гидрофильные ЭР на основе полярных компонентов разрушаются при контакте с водной фазой. Однако они могут растворять неполярные органические растворители, такие как жирные кислоты или спирты, которые могут выступать в качестве экстрагентов. Таким образом, ЭР могут выступать в качестве альтернативы органическим растворителям, таким как метанол, ацетон, ацетонитрил, используемым в качестве диспергаторов, при этом не увеличивая растворимость аналитов в донорной фазе, а наоборот, способствовать более полному извлечению аналитов. В данной работе показана возможность использования гидрофильных ЭР на основе тетрабутиламмоний бромид и различных полярных доноров водородной связи (муравьиная и уксусная кислоты, глицерин, этиленгликоль) в качестве диспергаторов при извлечении бисфенола А из пищевых продуктов с последующим его определением методом высокоэффективной жидкостной

хроматографии с флуориметрическим детектированием. Бисфенол А является полифенольным соединением, используемым в производстве пластиковых упаковок, и его содержание в пищевых продуктах требует контроля из-за его потенциальной канцерогенности.

ЭР готовили путем смешивания тетрабутиламмония бромида с донором водородной связи (этиленгликоль, глицерин, уксусная или муравьиная кислота) в мольном соотношении 1/2 при 80 °С. Полученные ЭР были вязкими жидкостями при комнатной температуре. Для детектирования бисфенола А использовалась система высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентным детектированием (LC-20 Prominence, Shimadzu, Япония) с колонкой Zorbax Bonus-RP (Agilent, 2500 × 2.1 мм, 3.5 мкм). Мобильная фаза состояла из деионизированной воды и метанола в объемном соотношении 1/3. Флуоресцентное детектирование проводили при длинах волн возбуждения и эмиссии 230 и 305 нм соответственно.

Согласно предложенной процедуре (Рисунок 35), водную пробу, содержащую бисфенол А, вводили в гомогенную экстракционную смесь, состоящую из экстрагента (длинноцепочечный спирт) и ЭР, который был использован в качестве диспергатора. Это приводило к растворению ЭР в пробе с одновременным диспергированием экстрагента и извлечением в него анализа. После этого смесь центрифугировали, верхнюю фазу отбирали и анализировали методом ВЭЖХ-ФЛД.

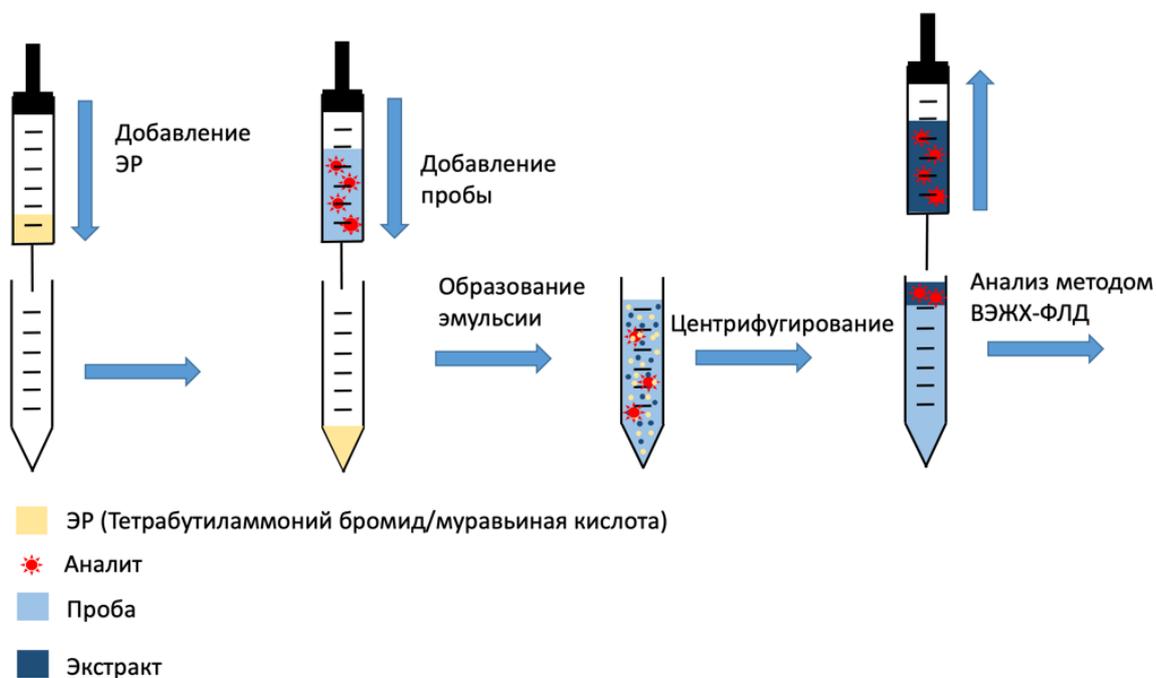


Рисунок 35 – Схема дисперсионной жидкостной микроэкстракции с использованием эвтектического растворителя в качестве диспергатора

Так как в данном исследовании впервые была продемонстрирована возможность использования ЭР в качестве диспергатора, на первом этапе изучено влияние природы ЭР на протекание процесса. Критерием выбора ЭР в качестве диспергирующего растворителя была его способность хорошо смешиваться как с водной фазой, так и с экстрагентом для обеспечения максимальной степени извлечения и воспроизводимости процесса. В качестве акцептора водородной связи был выбран тетрабутиламмоний бромид, так как ЭР на его основе обеспечивали растворение в нем неполярных экстрагентов (длинноцепочечных спиртов). В качестве ДВС использовали короткоцепочечные кислоты (муравьиная и уксусная) а также спирты (этиленгликоль и глицерин). Все исследованные ЭР смешивались с длинноцепочечными спиртами, используемыми в качестве экстрагентов, а также растворялись в водной фазе, образуя гомогенные растворы. Для выбора оптимального состава ЭР 5 мл водного раствора бисфенола А с концентрацией 1 мг/л смешивали с 1 мл ЭР, в котором растворяли 250 мкл гептанола, в качестве экстрагента. Это приводило к образованию двухфазного раствора, после центрифугирования которого отбирали фазу спирта, разбавляли

дважды метанолом и анализировали методом ВЭЖХ-ФЛД. Критерием выбора наиболее оптимального состава ЭР был максимум площади хроматографического пика аналита в фазе экстрагента. Максимальная площадь пика наблюдалась для ЭР на основе уксусной и муравьиной кислот (Рисунок 36). Это объясняется подавлением диссоциации аналита в кислой среде, что приводит к его более эффективной экстракции.

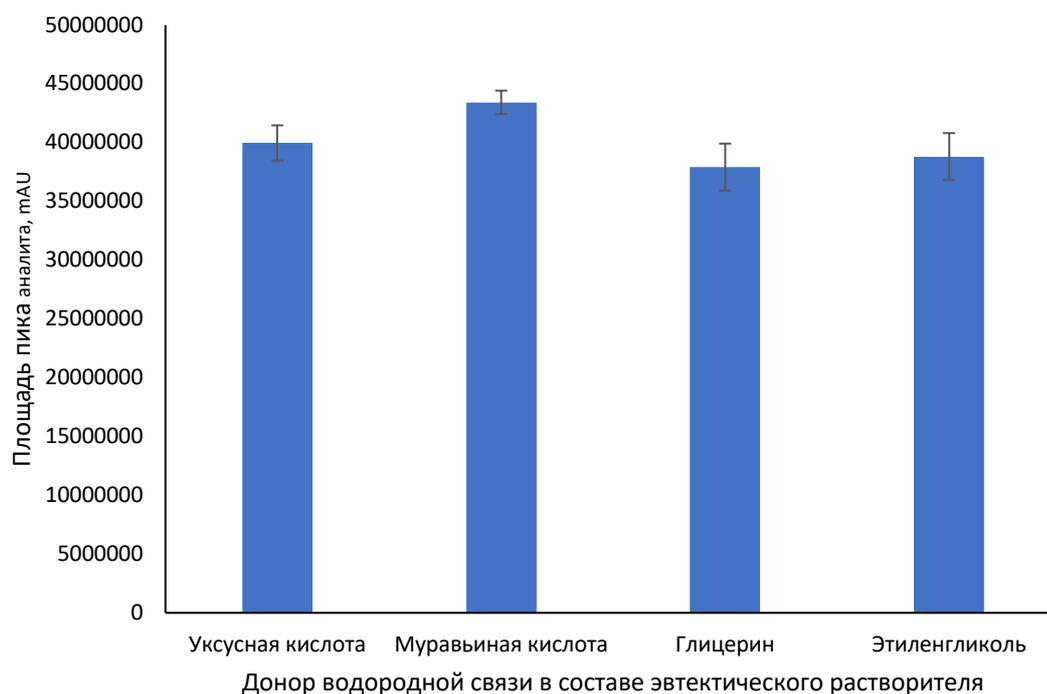


Рисунок 36 – Влияние донора водородной связи в составе эвтектического растворителя на площадь хроматографического пика аналита. (n=3, C аналита 1 мг/л)

ЭР на основе спиртов, также обеспечивали большие значения хроматографических пиков, однако ЭР на их основе обладали большей вязкостью, что затрудняло работу с ними, а также увеличивало кинетику экстракции. Таким образом, ЭР на основе тетрабутиламмоний бромиды и муравьиной кислоты был выбран в качестве оптимального, так как его вязкость была ниже среди всех используемых ЭР. Для достижения высокой степени извлечения и

концентрирования аналита было изучено влияние природы экстрагента на площадь хроматографического пика аналита. Для этого водную пробу объемом 5 мл, содержащую 1 мг/л бисфенола А, вводили в экстракционную смесь, содержащую 250 мкл длинноцепочечного спирта и 1 мл ЭР. Обычно реализуют обратный процесс, когда смесь экстрагента и диспергатора вводят в пробу. Однако, учитывая более высокую вязкость ЭР по сравнению с органическими растворителями, процедуру изменили для введения пробы в экстракционную смесь. В качестве экстрагентов рассматривали спирты от гептанола до деканола. Было установлено, что использование гептанола и октанола обеспечивает максимальные степени извлечения, однако площадь хроматографического пика аналита была немного больше в случае октанола (Рисунок 37). Это связано с большей полярностью октанола и гептанола по сравнению с деканолом, что способствует более эффективному извлечению бисфенола А.

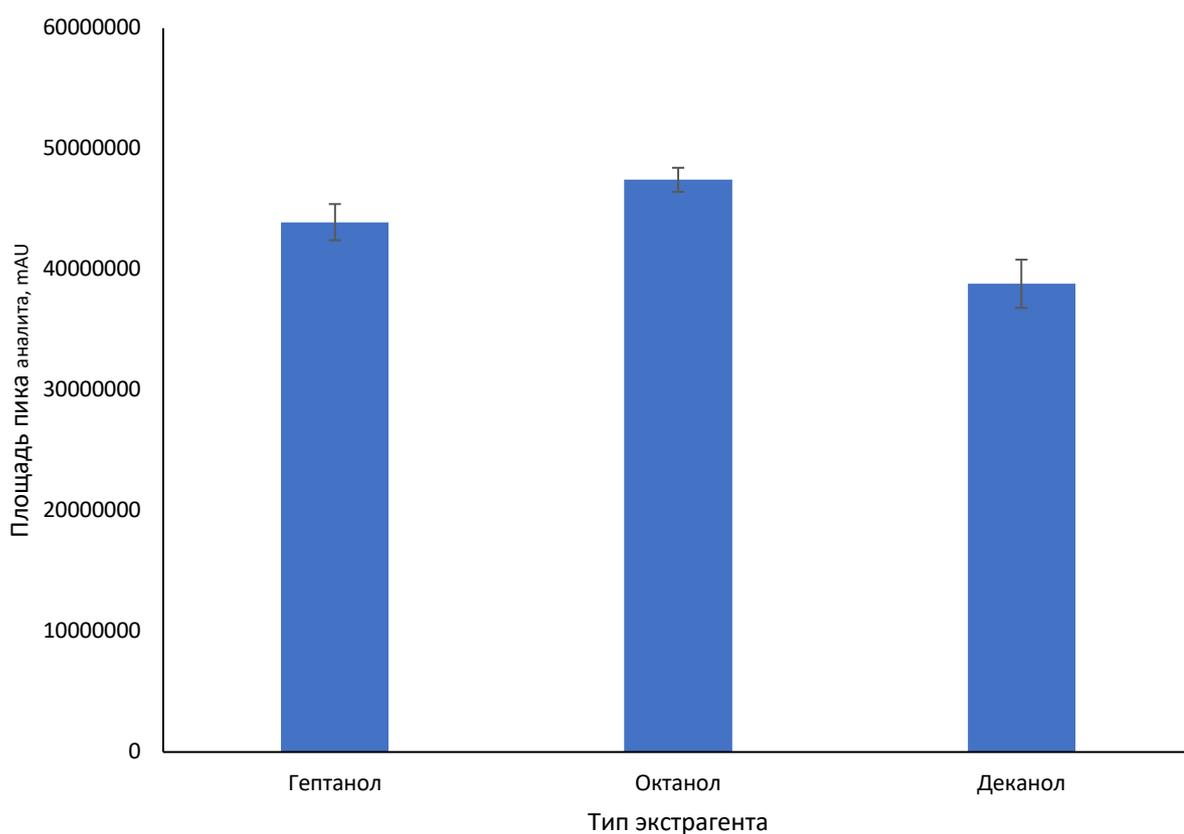


Рисунок 37 – Влияние экстрагента на площадь хроматографического пика бисфенола (n=3, С аналита 1 мг/л)

Объем экстрагента варьировали от 100 до 250 мкл, чтобы добиться максимального коэффициента концентрирования, при фиксированном объеме ЭР равном 1 мл. Было показано (Рисунок 38), что максимальная площадь пика наблюдалась при объеме октанола 100 мкл. Однако в этом случае было трудно воспроизводимо отобрать верхнюю органическую фазу, что приводило к низкой воспроизводимости (СКО = 15%). Использование 150 мкл октанола обеспечивало удовлетворительную степень извлечения и коэффициент концентрирования, а также лучшую воспроизводимость (СКО = 4%). Таким образом, оптимальный объем октанола был выбран 150 мкл.

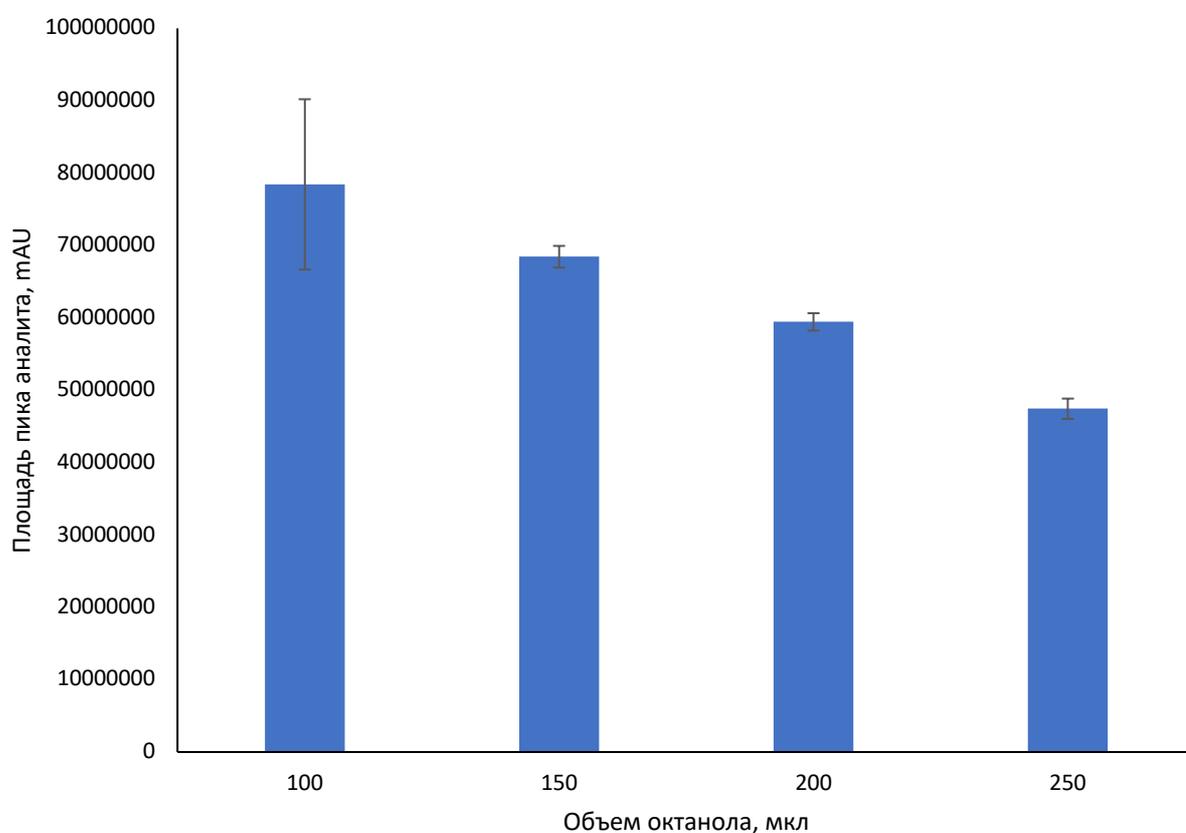


Рисунок 38 – Влияние объема экстрагента на площадь хроматографического пика аналита (n=3, С аналита 1 мг/л)

Для уменьшения расхода ЭР было также изучено влияние его объема на степень извлечения. Как видно из полученных данных (Рисунок 39), объем ЭР значительно влиял на процесс экстракции. Аналитический сигнал увеличивался при уменьшении объема ЭР до 250 мкл. Без диспергатора, или при его объеме

менее 250 мкл наблюдалось не эффективное диспергирование экстрагента, что приводило к получению низких значений степени извлечения. Большой объем ЭР также приводил к уменьшению площади пика аналита за счет его растворения в фазе пробы при высокой концентрации в ней тетрабутиламмоний бромида. Таким образом, оптимальный объем ЭР был выбрана 250 мкл.

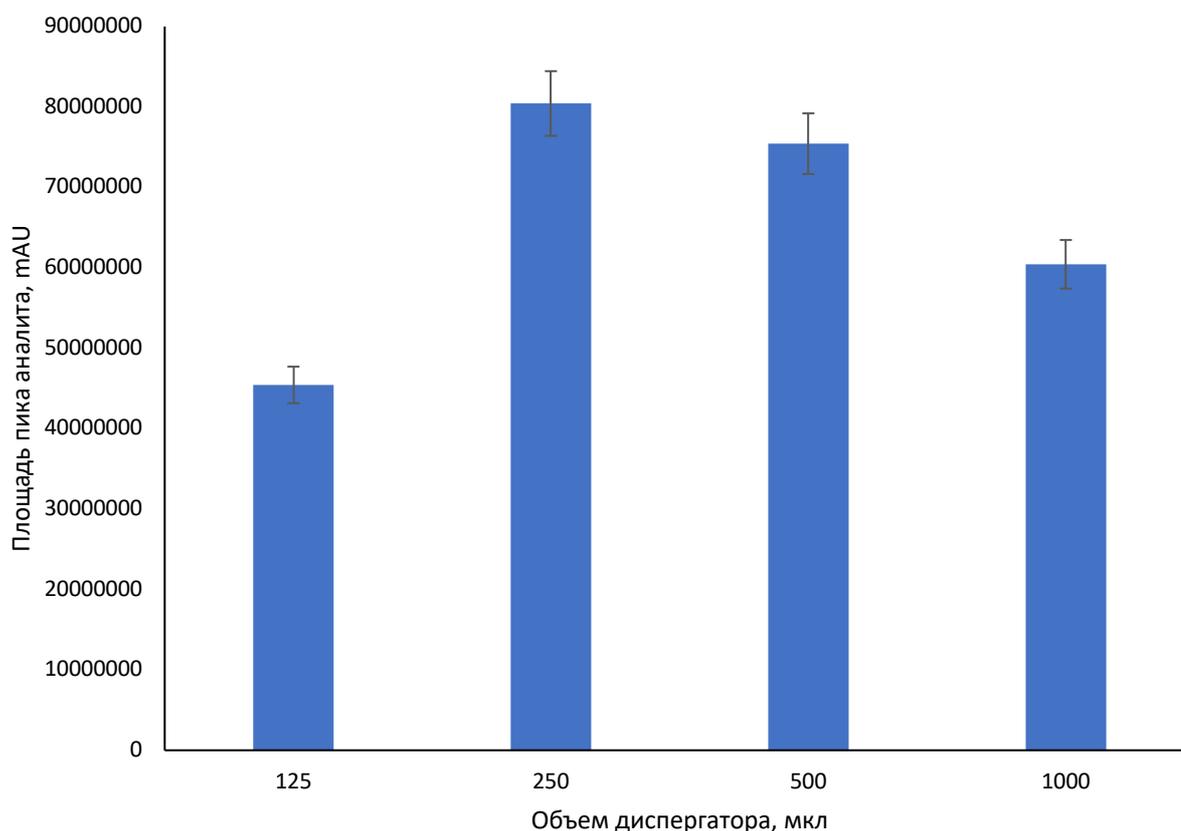


Рисунок 39 – Влияние объема диспергатора на площадь хроматографического пика аналита. (n=3, С аналита 1 мг/л)

После оптимизации условий экстракции предложенный способ ДЖМЭ был реализован при использовании традиционных полярных, водорастворимых органических диспергаторов. Для этого экстракционную смесь, содержащую 150 мкл октанола и 250 мкл диспергатора (ацетон, ацетонитрил, метанол, этанол или изопропиловый спирт), вводили в водную пробу объемом 5 мл, содержащую 1 мг/л аналита. После центрифугирования органическую фазу отбирали и анализировали методом ВЭЖХ-ФЛД. Полученные результаты (Рисунок 40) показали, что

предложенный подход обеспечивал значительно более высокую степень извлечения аналита. Было установлено, что значения степени извлечения для ЭР, метанола, ацетона, ацетонитрила, изопропилового спирта и этанола составляли 95, 49, 61, 58, 55, 59 % соответственно.

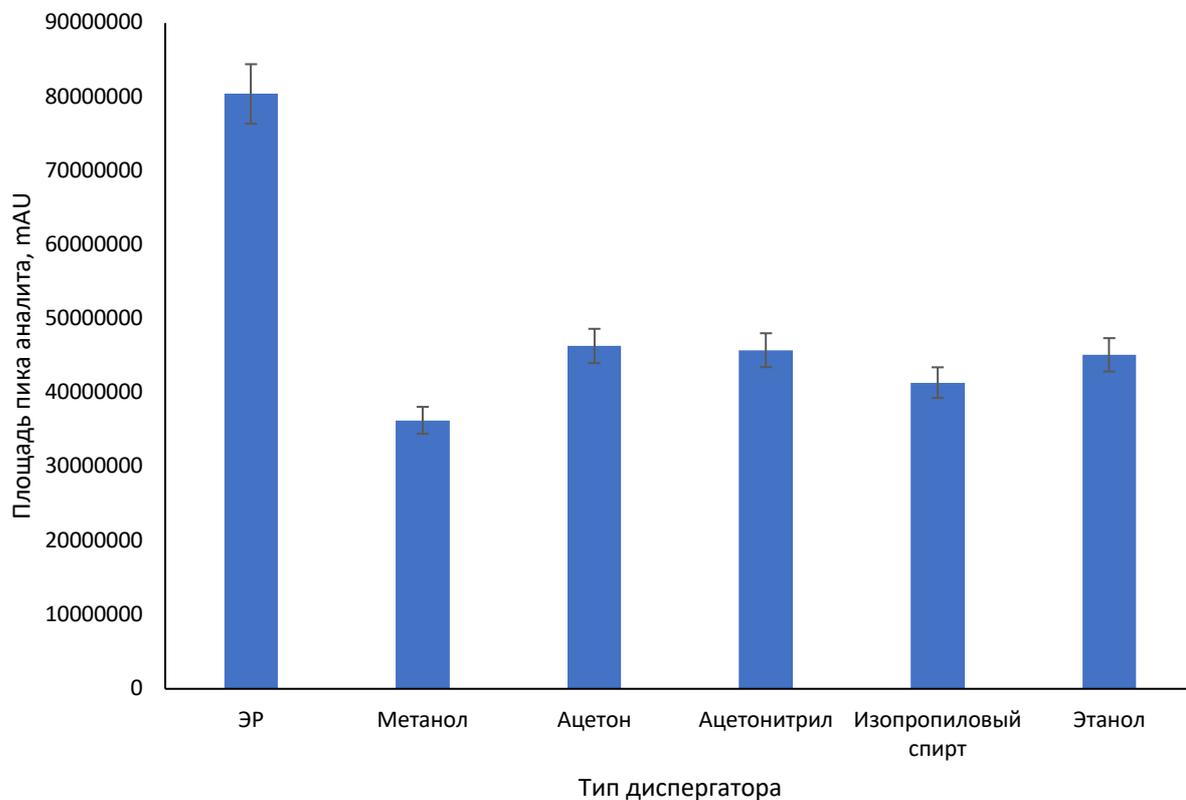


Рисунок 40 – Влияние растворителя-диспергатора на аналитический сигнал бисфенола А (n=3, С аналита 1 мг/л)

Результаты валидации разработанного способа представлены в Таблице 13. Градуировочная зависимость была построена с использованием СО состава раствора бисфенола А (БФА-ПА). Растворы для градуировки проводили через все стадии пробоподготовки. ДОК бисфенола А составил от 0,001 до 1 мг/л ($R^2=0,996$). Предел обнаружения (3σ) и определения (10σ) составил 0,0003 мг/л 0,001 мг/л соответственно. Степень извлечения составила 95 %, коэффициент концентрирования – 33. Для оценки прецизионности рассчитывали ОСКО. Значения ОСКО в условиях повторяемости и внутрिलाбораторной воспроизводимости составили 2 и 4 % соответственно.

Таблица 13 – Аналитические характеристики ДЖМЭ способа определения бисфенола А в напитках

Параметр	Значение
Диапазон определяемых концентраций, мг/л	0,001-1
R^2	0,996
Предел обнаружения (3σ), мг/л	0,0003
Предел определения (10σ), мг/л	0,001
Степень извлечения, %	95
Коэффициент концентрирования	33
Повторяемость (ОСКО, $n=3$), % ($C = 0,01$ мг/л)	2
Внутрилабораторная воспроизводимость (ОСКО, $n=3$), % ($C = 0,01$ мг/л)	4

Разработанный способ был использован для определения бисфенола А в трех образцах напитков (негазированная вода, газированная вода и апельсиновый сок), приобретенных в местных супермаркетах. Аналит был обнаружен в образце газированной воды, хранящейся в пластиковой упаковке (Таблица 14). Правильность получаемых результатов была подтверждена методом «введено-найдено». Таким образом впервые была продемонстрирована возможность использования ЭР в качестве диспергатора при реализации процедуры ДЖМЭ. Это позволило отказаться от использования летучих органических растворителей, таких как метанол, ацетон, ацетонитрил, этиловый и изопропиловый спирты в качестве диспергаторов. Кроме увеличения эффективности экстракции неполярных аналитов за счет отказа от использования органических диспергаторов, которые повышают их растворимость в водной фазе, предложенный подход открывает новые возможности реализации ДЖМЭ за счет возможностей варьирования свойств самих используемых ЭР, что невозможно в

случае использования органических растворителей. Например, становится возможным изменение ионной силы донорного раствора или его pH за счет индивидуального выбора компонентов ЭР, используемых в качестве диспергаторов. Полученные результаты были опубликованы в работе [267].

Таблица 14 – Результаты определения бисфенола-А в напитках (n=4; P = 0,95)

Образец	Введено, мг/л	Найдено, мг/л	Относительное смещение, %
Негазированная вода	0	<ПО	
	0,01	0,0094 ± 0,0001	6
Газированная вода	0	0,020 ± 0,002	-
	0,01	0,028 ± 0,002	7
Апельсиновый сок	0	<ПО	-
	0,01	0,011 ± 0,002	10

Таким образом, было показано, что эвтектические растворители открывают новые возможности для улучшения существующих способов дисперсионной жидкостной микроэкстракции. Высокая степень извлечения аналита и воспроизводимость результатов делают ЭР привлекательными для решения подобных аналитических задач. Эти свойства особенно полезны при анализе сложных матриц, таких как пищевые продукты. Однако такой подход требует использование как ЭР, который используется в качестве диспергатора, так и дополнительного экстрагента. Это увеличивает расход реагентов и времени на приготовления трехкомпонентной смеси.

Для устранения данных ограничений был предложен подход, заключающийся в использовании только ЭР и как экстрагента и как диспергатора одновременно, который основан на разрушении квазигидрофобного ЭР при контакте с водной фазой. На этапе исследования стабильности ЭР на основе четвертичных аммонийных солей было установлено, что ЭР, изготовленные,

например, из тетрабутиламмония бромида и неполярных соединений, таких как жирные кислоты или длинноцепочечные спирты, разрушаются в водной фазе, что приводит к *in situ* образованию и диспергированию органической фазы, обогащённой неполярным компонентом ЭР. При этом данную фазу можно использовать в качестве экстрагента для экстракции гидрофобных аналитов. Например, длинноцепочечный спирт может выступать как экстрагент, а тетрабутиламмоний бромид – как диспергатор, который способствует диспергированию экстрагента. Это явление было использовано в данной работе для извлечения и концентрирования эстрадиола из образцов трансдермального геля.

Согласно предложенной процедуре (Рисунок 41), раствор пробы, полученный после растворения геля в воде, быстро вводили шприцом в полипропиленовую пробирку, содержащую ЭР (тетрабутиламмоний бромид и длинноцепочечный спирт). При контакте пробы и ЭР происходило растворение тетрабутиламмоний бромида в водной фазе, что приводило к разрушению исходного ЭР и диспергированию фазы спирта. При этом фаза экстрагента была меньше по объему, чем исходная фаза ЭР, что обеспечивало более высокое концентрирование аналита. После центрифугирования верхнюю фазу отбирали, переносили в другую пробирку и разбавляли метанолом для уменьшения вязкости. Полученный раствор вводили в систему ВЭЖХ-УФ.

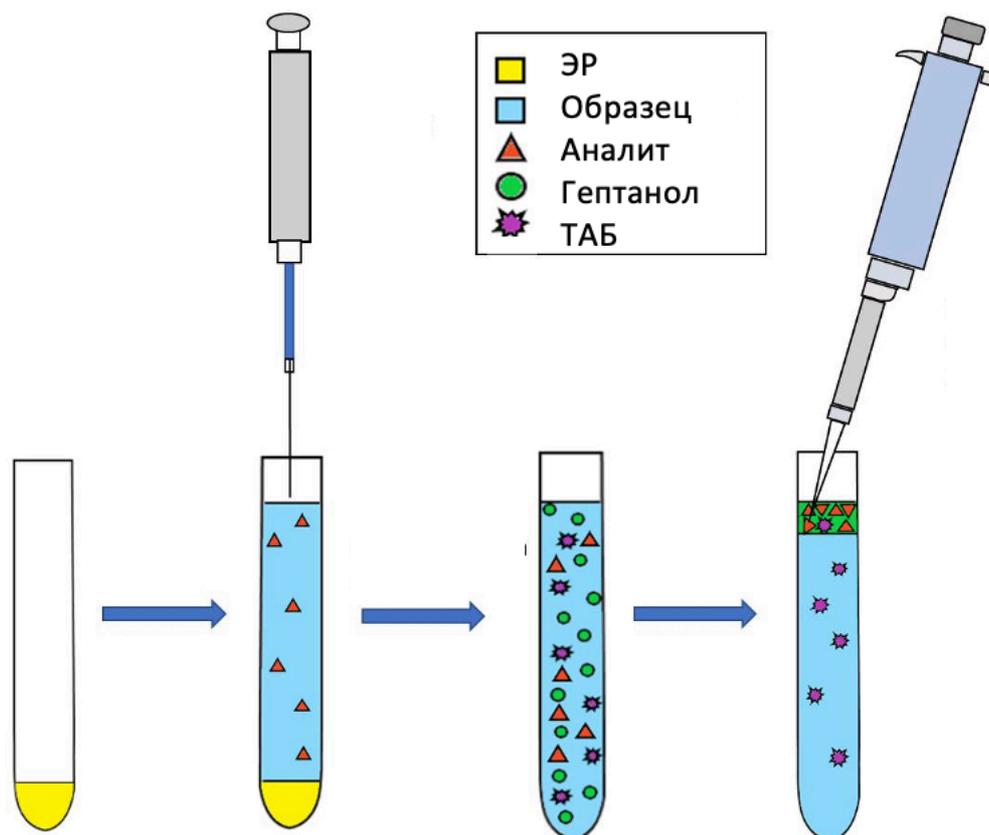


Рисунок 41 – Схема дисперсионной жидкостной микроэкстракции с использованием квазигидрофобного эвтектического растворителя в качестве экстрагента и диспергатора

Основываясь на предварительных исследованиях, ЭР были изготовлены из ТБА и жирных спиртов, которые одновременно выступали и в качестве донора водородной связи и в качестве экстрагента. Такая смесь полярного и неполярного компонента обеспечивала получение квазигидрофобного ЭР. ТБА является водорастворимым компонентом ЭР, и предполагается, что разложение ЭР связано с растворением тетрабутиламмония бромид в водной фазе, тогда как спирт отвечает за образование диспергированной органической фазы. Для микроэкстракции эстрадиола были изучены несколько квазигидрофобных ЭР, изготовленных из тетрабутиламмония бромид в качестве акцептора водородной связи и длинноцепочечных спиртов (гептанола, октанола, деканола и додеканола) в качестве донора водородной связи. Установлено, что все исследованные ЭР разрушались при контакте с водной фазой, что было подтверждено уменьшением

объема фазы ЭР. Однако полученная степень извлечения аналита зависела от спирта, входящего в состав ЭР. Более высокая степень извлечения и меньшее значение СКО были получены для ЭР на основе тетрабутиламмония бромида и гептанола в мольном соотношении 1/2 (Рисунок 42), что связано с большим сродством аналита к гептанолу.

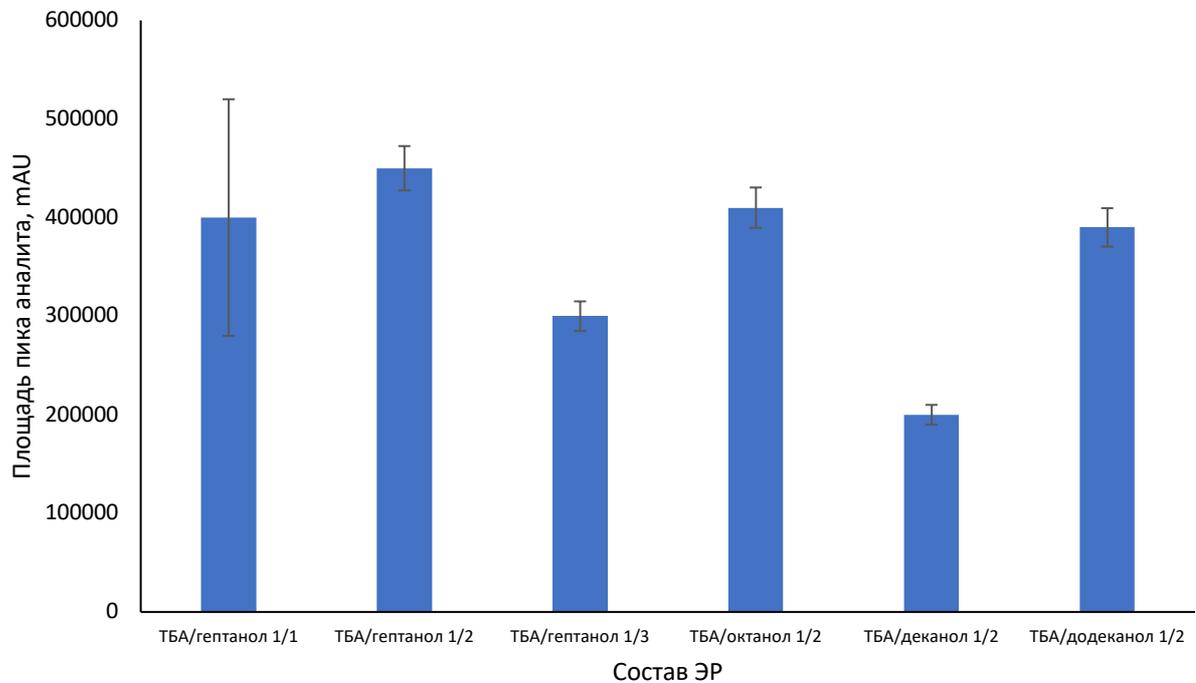


Рисунок 42. Влияние состава ЭР на площадь пика эстрадиола ($n=3$,
С аналита 10 мг/л, ТБА – тетрабутиламмоний бромид)

После выбора оптимального состава ЭР был исследован механизм разрушения данного ЭР при контакте с водной фазой. После смешивания 250 мкл данного ЭР с 1,5 мл водной фазы наблюдали образование двухфазного раствора. После центрифугирования водную фазу анализировали методом ВЭЖХ-УФ, а органическую фазу анализировали методом ГХ-МС. Было установлено, что $85 \pm 2\%$ исходного тетрабутиламмония бромида переходит в водную фазу. Концентрация гептанола в органической фазе составила $78 \pm 2\%$ (масс). Также органическую фазу анализировали методом Карла-Фишера, и было установлено, что она содержит $7,01 \pm 0,07\%$ воды. Таким образом, механизм экстракции был связан именно с разложением ЭР в результате растворения тетрабутиламмония

бромид в водной пробе. С этой точки зрения тетрабутиламмоний бромид может рассматриваться как диспергатор, как в традиционной дисперсионной жидкостной микроэкстракции, где диспергирующий растворитель используется для диспергирования органической фазы. Однако тетрабутиламмония бромид как четвертичная аммонийная соль, что способствует улучшению массообмена аналита между двумя фазами.

Объем фазы ЭР может привести как к концентрированию, так и к разбавлению фазы экстрагента. С одной стороны, объем фазы ЭР должен быть как можно меньше для достижения высокого коэффициента концентрирования. С другой стороны, использование слишком малого объема фазы ЭР может привести к низкой воспроизводимости за счет неэффективного диспергирования фазы экстрагента. Влияние объема ЭР исследовалось в диапазоне от 200 до 600 мкл (рисунок 43). С увеличением объема ЭР преобладал эффект разбавления, и аналитический сигнал уменьшался. Однако, если используемый объем ЭР был менее 250 мкл, было трудно воспроизводимо отобрать образующуюся фазу экстрагента, что приводило к низкой воспроизводимости. Поэтому для дальнейших экспериментов был выбран объем ЭР 250 мкл.

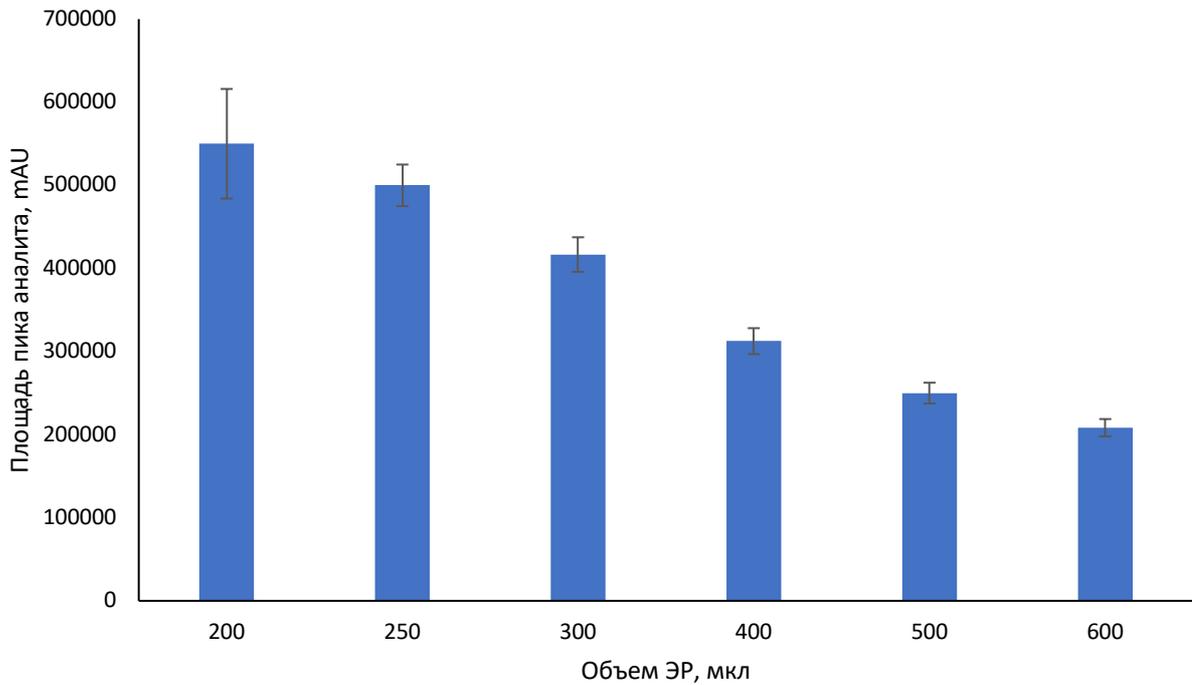


Рисунок 43 – Влияние объема ЭР на площадь пика эстрадиола (n=3, С аналита 10 мг/л)

Для демонстрации преимущества разработанного способа по сравнению с классическим вариантом реализации ДЖМЭ с использованием органических диспергаторов анализ реальной пробы проводил в различных условиях. Для этого в 1,5 мл водного раствора аналита (10 мг/л) вводили 250 мкл экстракционной смеси, содержащей гептанол и различные диспергаторы (изопропиловый спирт, метанол, ацетон или ацетонитрил) в соотношении 2/1 по объему. После центрифугирования органическую фазу анализировали методом ВЭЖХ-УФ. Было показано (Рисунок 44), что степень извлечения, полученная в случае использования ЭР, выше, чем степень извлечения для исследованных смесей гептанола с органическими растворителями. Полученный результат подтвердил тот факт, что полярные органические диспергаторы повышают растворимость данного аналита в водной фазе.

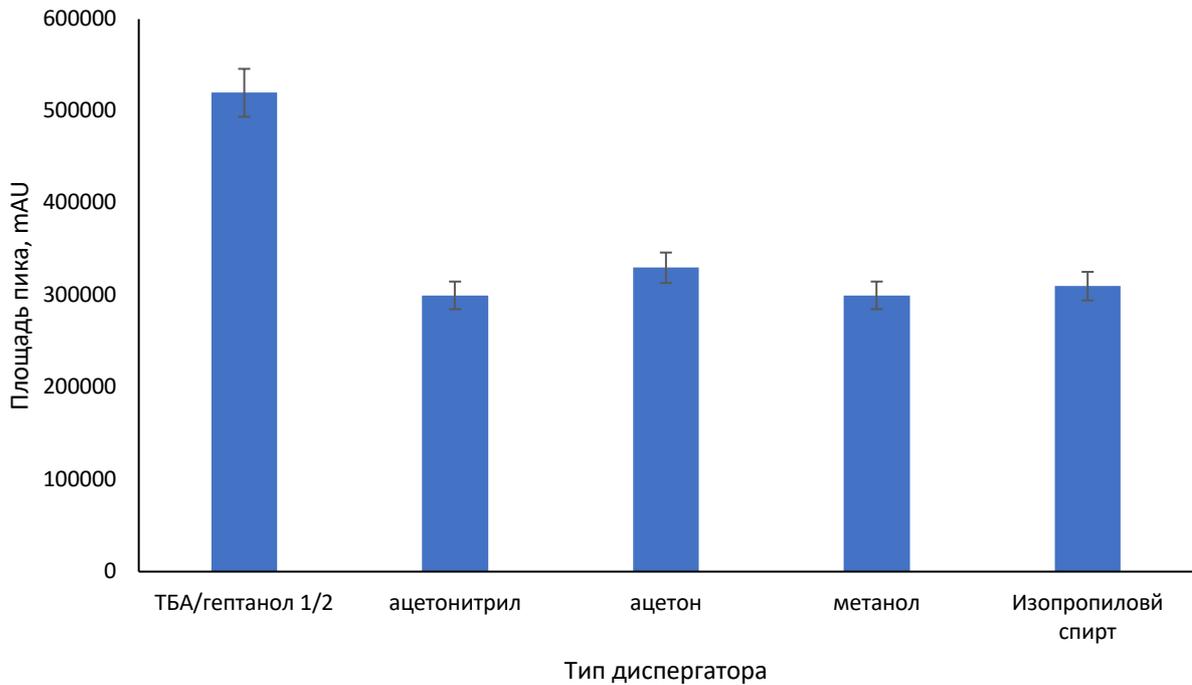


Рисунок 44 – Влияние типа диспергатора на площадь пика эстрадиола ($n=3$, C аналита 10 мг/л) ТБА – тетрабутиламмоний бромид)

Результаты валидации разработанного способа представлены в Таблице 15. Градуировочная зависимость была построена с использованием СО состава раствора эстрадиола (СО-ЭД). Растворы для градуировки проводили через все стадии пробоподготовки. ДОК эстрадиола составил от 0,5 до 100 мг/л ($R^2=0,9954$). Предел обнаружения (3σ) и определения (10σ) составил 0,15 мг/л 0,5 мг/л соответственно. Степень извлечения составила 95 %, коэффициент концентрирования – 15. Для оценки прецизионности рассчитывали ОСКО. Значения ОСКО в условиях повторяемости и внутрилабораторной воспроизводимости составили 6 % и 8 % соответственно. Общее время микроэкстракционного выделения аналита не превышало 5 мин.

Таблица 15 – Аналитические характеристики разработанного способа определения эстрадиола в лекарственных препаратах

Параметр	Значение
Диапазон определяемых концентраций, мг/л	0,5-100
R^2	0,9954
Предел обнаружения (3σ), мг/л	0,15
Предел определения (10σ), мг/л	0,5
Степень извлечения, %	95
Коэффициент концентрирования	15
Повторяемость (ОСКО, $n=3$), % ($C = 25$ мг/л)	6
Внутрилабораторная воспроизводимость (ОСКО, $n=3$), % ($C = 25$ мг/л)	8

Способ был использован для оценки содержания эстрадиола в пробах лекарственных препаратов (Таблица 16). Правильность получаемых результатов подтверждали методом «введено-найдено» и их сравнением с результатами, полученными независимым способом. В качестве независимой процедуры использовали методику, описанную в работе [268] с некоторыми небольшими модификациями. Для этого 500 мкл метанола в смеси с 100 мкл $C_2H_2Cl_4$, быстро вводили в раствор пробы. Смесь дополнительно перемешивали в течение 1 мин, а затем центрифугировали в течение 2 мин. при 4000 об/мин. Выделенную фазу экстрагента упаривали досуха и растворяли в 100 мкл метанола, а полученный раствор анализировали методом ВЭЖХ-УФ.

Таблица 16 – Результаты определения эстрадиола (мг/л) в образцах трансдермального геля (n=3, P=0,95, Fk=19,2, tk=2,78)

Образец	Введено, мг/л	Предложенная процедура, мг/л	Независимая процедура, мг/л	F-тест	t-тест	Относительное смещение, %
1	0	36,3 ± 5,8	35,0 ± 6,5	0,79	0,29	-
	15	49,7 ± 6,6	48,7 ± 9,1	0,53	0,18	11
	30	63,4 ± 3,4	62,9 ± 10,1	0,11	0,11	10
	45	77,8 ± 8,5	75,1 ± 11,4	0,55	0,38	9
2	0	20,0 ± 2,8	21,9 ± 3,3	0,73	0,83	-
	10	30,6 ± 1,3	32,4 ± 8,4	0,03	0,59	5
	20	39,8 ± 2,5	46,6 ± 7,9	0,14	1,94	1
	30	48,6 ± 4,9	52,8 ± 3,4	2,10	1,16	5

В Таблице 17 показано сравнение аналитических характеристик разработанной процедуры и представленных в литературе процедур определения эстрадиола в лекарственных препаратах. С точки зрения пределов обнаружения, времени анализа и прецизионности разработанная процедура не уступает большинству, предложенных в литературе методик. Однако, предлагаемый способ характеризуется меньшим расходом органических растворителей и, следовательно, является более экологически безопасным.

Таблица 17 – Сравнение предложенной процедуры определения эстрадиола в образцах трансдермального геля с описанными в литературе

Образец	Метод анализа	Предобработка образца	ПО, мг/л	СКО, %	Степень извлечения, %	Общее время анализа, мин	Ссылка
Гель	ВЭЖХ-УФ	Растворение в 20 мл ацетонитрила	0,01	1,94	99,6	26	[269]
Таблетки	ВЭЖХ-ФЛД	Растворение в 75 мл метанола	0,01	1,89	101,6	22	[270]
Таблетки	Дифференциальная импульсная вольтамперометрия	Растворение в поддерживающем электролите	5,5	0,99	100,5	15	[271]
Гель	ВЭЖХ-УФ	Растворение в 1,5 мл воды и ДЖМЭ (250 мкл ЭР)	0,15	6	90-101	12	Данная работа

Таким образом, предложенная новая аналитическая процедура может рассматриваться как новый способ реализации дисперсионной жидкостной микроэкстракции без использования органических растворителей в качестве диспергаторов. Предложенный подход обеспечивает эффективную экстракцию эстрадиола с высокой степенью извлечения ($95 \pm 5\%$), низким значением СКО (6%) и коротким временем анализа (12 мин.). Использование ЭР как диспергаторов и экстрагентов одновременно предоставляет значительные преимущества в упрощении процедур экстракции и повышении их эффективности. Высокая чувствительность способов ДЖМЭ на основе ЭР позволяют использовать их для анализа сложных матриц и определения широкого спектра аналитов. Применение ЭР открывает новые возможности для анализа лекарственных препаратов и контроля качества пищевых продуктов, обеспечивая надежные и точные результаты. Полученные результаты были опубликованы в работе [272]. Однако предложенные процедуры преимущественно ориентированы на анализ водных проб, что ограничивает их потенциал при анализе неводных органических матриц, например, пищевых масел.

Однако процесс разрушения квазигидрофобных ЭР может наблюдаться не только при контакте с водной пробой, но и при контакте с органической фазой за счет растворения гидрофобного компонента с образованием фазы полярного компонента ЭР. Это открывает дополнительные возможности использования предложенного способа для анализа органических проб. Так, в данной работе впервые предложен и реализован способ обращено-фазовой ДЖМЭ основной на разрушении ЭР с применением квазигидрофобных ЭР. Такой способ позволил расширить область применения ЭР в качестве растворителей-диспергаторов и экстрагентов при анализе неполярных матриц и нашел применение для определения тяжелых металлов (свинца и кадмия) в растительных маслах методом инверсионной вальтамперометрии (ИВА).

Обычно химический анализ органических жидких образцов, таких как растительные масла, включает или разбавление образцов органическими

растворителями или разложение образцов с использованием микроволнового оборудования. Однако жидкостная микроэкстракция в обращенно-фазовом варианте является более предпочтительной с точки зрения минимизации использования органических растворителей и получения отходов после процедуры микроволновой минерализации. Тем не менее при анализе органических проб также в качестве диспергаторов используются полярные органические растворители, такие как спирты, ацетон, ацетонитрил, что уменьшает экологичность подобных процедур.

В данной работе была впервые предложена процедура обращенно-фазовой дисперсионной жидкостной микроэкстракции на основе разрушения эвтектического растворителя для пробоподготовки органических жидких проб. Способ был использован для быстрого и эффективного извлечения свинца и кадмия из образцов растительного масла. Процедура включала смешивание образца масла и квазигидрофобного трехкомпонентного ЭР на основе природных терпеноидов (тимола и ментола), а также органических кислот (муравьиной и уксусной) и воды. Вода как компонент ЭР инициировала его разрушение в матрице образца, что приводило к растворению терпеноида в фазе масла и диспергированию водного раствора кислоты. В данной процедуре неполярный компонент ЭР (терпеноид) выступал в качестве диспергатора для диспергирования водного раствора кислоты. После выделения фазы экстрагента центрифугированием металлы определяли методом инверсионной вольтамперометрии (Рисунок 45).

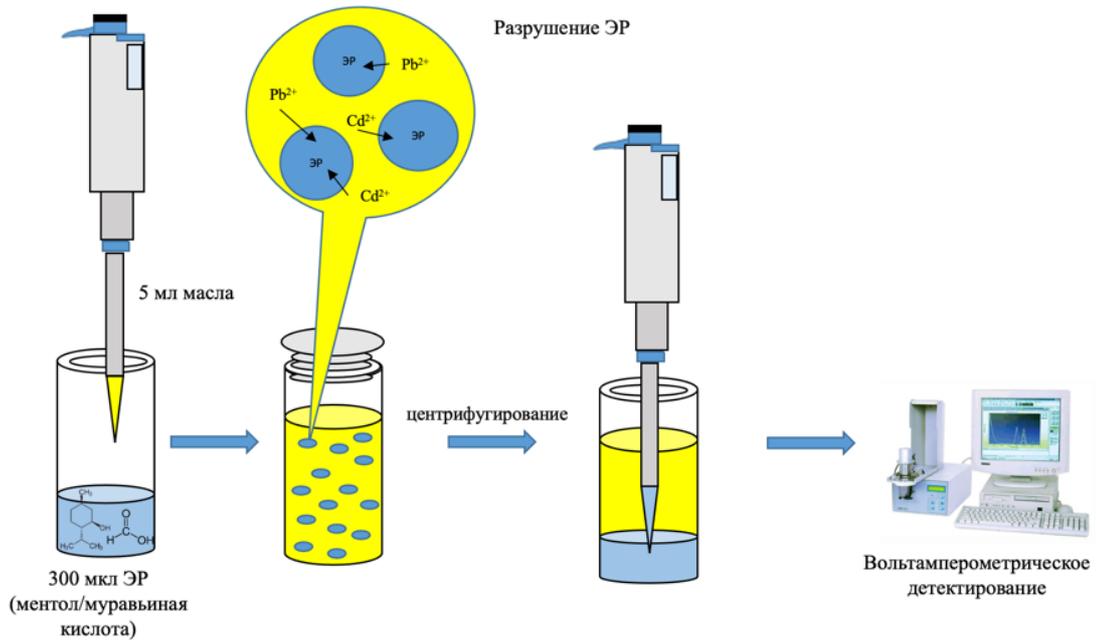


Рисунок 45 – Схема обращенно-фазовой дисперсионной жидкостной микроэкстракции с использованием эвтектического растворителя в качестве экстрагента и диспергатора

Двухкомпонентные ЭР готовили путем смешивания муравьиной или уксусной кислоты с ментолом или тимолом в мольном соотношении 1/1 при нагревании при 50 °С и перемешивании до образования прозрачных жидкостей. Для получения трехкомпонентных ЭР к 1 мл двухкомпонентного ЭР по каплям добавляли воду до тех пор, пока смесь не становилась мутной. После этого смесь центрифугировали и отбирали верхнюю фазу ЭР. Содержание воды во всех трехкомпонентных ЭР, определенное методом Карла Фишера не превышало 3 %. Растворители хранили в холодильнике в закрытых флаконах в течение не более двух недель.

Согласно предложенной процедуре ЭР помещали в 12 мл полипропиленовую пробирку, затем к растворителю быстро добавляли 5 мл образца масла с помощью шприца. Это приводило к быстрому распределению ЭР по объему образца без дополнительного перемешивания. Шприц с пробой взвешивали до и после введения образца для точной оценки массы пробы. Затем выдерживали паузу в 5

мин для количественного извлечения металлов в фазу экстрагента, так как в случае вязкой пробы масла кинетика экстракции была замедленной. После этого к эмульсии добавляли 100 мкл дистиллированной воды, перемешивали смесь вручную в течение 10 сек. и центрифугировали при 6000 об/мин в течение 5 мин. Добавление воды было необходимо для получения объема фазы экстрагента достаточной для анализа методом ИВА. Затем 100 мкл нижней фазы отбирали микропипеткой и анализировали. Сначала записывали несколько холостых вольтамперограмм до достижения воспроизводимого фонового сигнала. Затем вводили аликвоту экстракта в ячейку и записывали вольтамперограмму образца. Затем в смесь вводили стандартную добавку раствора металлов с известной концентрацией и записывали вольтамперограмму раствора с добавкой.

В отличие от предыдущих работ в данной работе были использованы ЭР на основе природных терпеноидов и полярных водорастворимых кислот. Таким образом, полярный компонент ЭР (кислота) в данном случае является экстрагентом, а неполярный (терпеноид) является диспергатором. Природные терпеноиды, такие как ментол и тимол, растворимы в пищевом масле. Муравьиная и уксусная кислоты были выбраны в качестве доноров водородных связей для образования ЭР, так как, с одной стороны, они имеют низкую растворимость в образце масла, а с другой стороны, они могут использоваться в качестве фонового электролита при последующем электрохимическом детектировании.

При использовании двухкомпонентных ЭР наблюдалось их полное растворение в фазе масла, что может быть связано с тем, что несмотря на полярную природу кислоты, прочные водородные связи в ЭР удерживали ее от формирования собственной фазы при смешивании с маслом. Однако при использовании трехкомпонентных ЭР, в состав которых вводили воду, наблюдалось образование эмульсии при смешивании данного ЭР и пробы масла. Таким образом, вода инициировала разрушение ЭР.

При использовании 500 мкл ЭР и 5 мл пробы после центрифугирования эмульсии было обнаружено, что объем нижней фазы составляет примерно 10-15 мкл, что соответствует приблизительному объему воды в исходных ЭР.

Полученные экстракты анализировали методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, и было установлено, что они содержат $31,7 \pm 0,2$ % карбоновой кислоты и $3,13 \pm 0,21$ % терпеноидов в водной фазе. Полученные результаты подтвердили разложение ЭР.

После разделения фаз терпеноиды в основном растворялись в фазе масла, а карбоновые кислоты – в водной фазе. Однако выделенный объем был недостаточен для дальнейшего электрохимического анализа, а также присутствие терпеноидов в фазе экстрагента оказывало мешающее влияние при проведении электрохимического анализа. Для увеличения объема фазы перед стадией центрифугирования к эмульсии добавляли 100 мкл воды, и после центрифугирования объем водной фазы составлял примерно 110 мкл. Содержание терпеноидов в данной фазе уменьшилось более чем в 100 раз за счет получения более полярной фазы, что устранило их мешающее влияние.

Все исследованные ЭР обеспечивали степени извлечения свинца и кадмия из образцов пищевого масла на уровне более 80 %. Типичные вольтамперограммы экстрактов представлены на Рисунке 46.

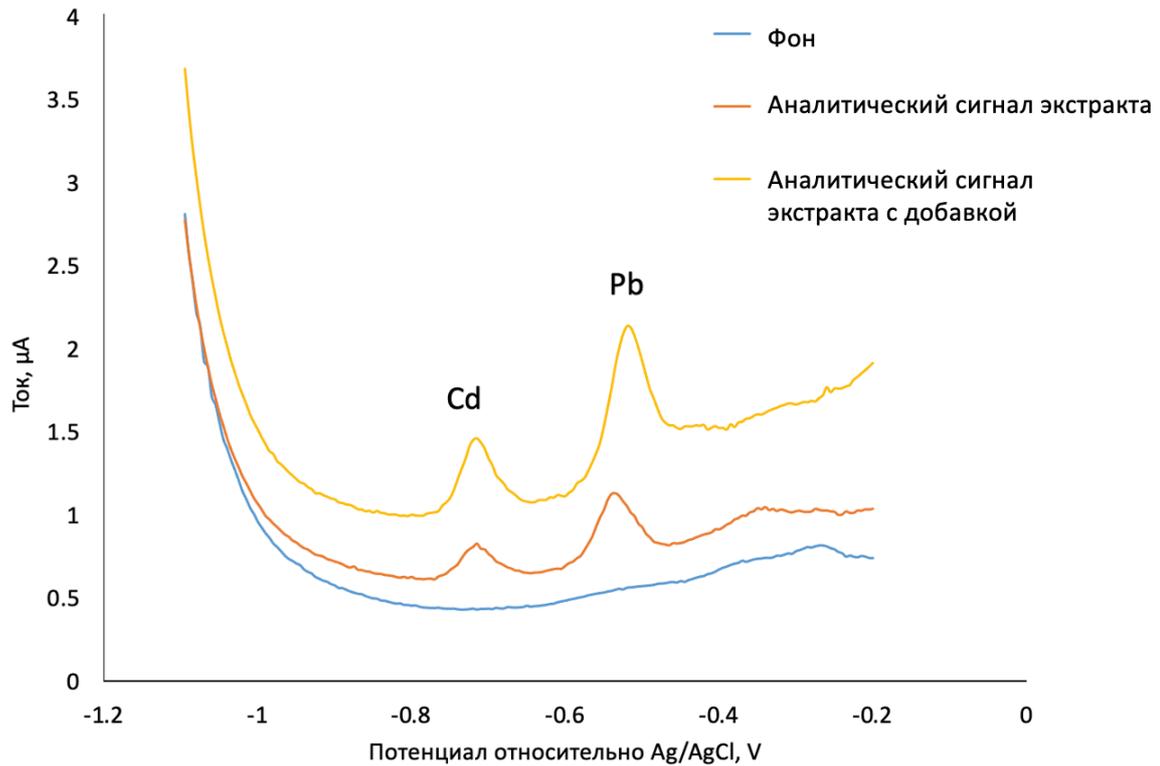


Рисунок 46 – Вольтамперограммы экстрактов (содержание аналитов: 0,1 мкг/кг Cd и 0,2 мкг/кг Pb, объем пробы – 0,5 мл; объем ЭР – 0,5 мл)

Для изучения влияния состава ЭР 500 мкл рабочего раствора масла с металлами (1 мкг/кг) смешивали с 500 мкл ЭР. После добавления 100 мкл воды и центрифугирования водную фазу отбирали и анализировали. Максимальные токи свинца и кадмия были получены для трехкомпонентных ЭР на основе муравьиной кислоты (Рисунок 47).

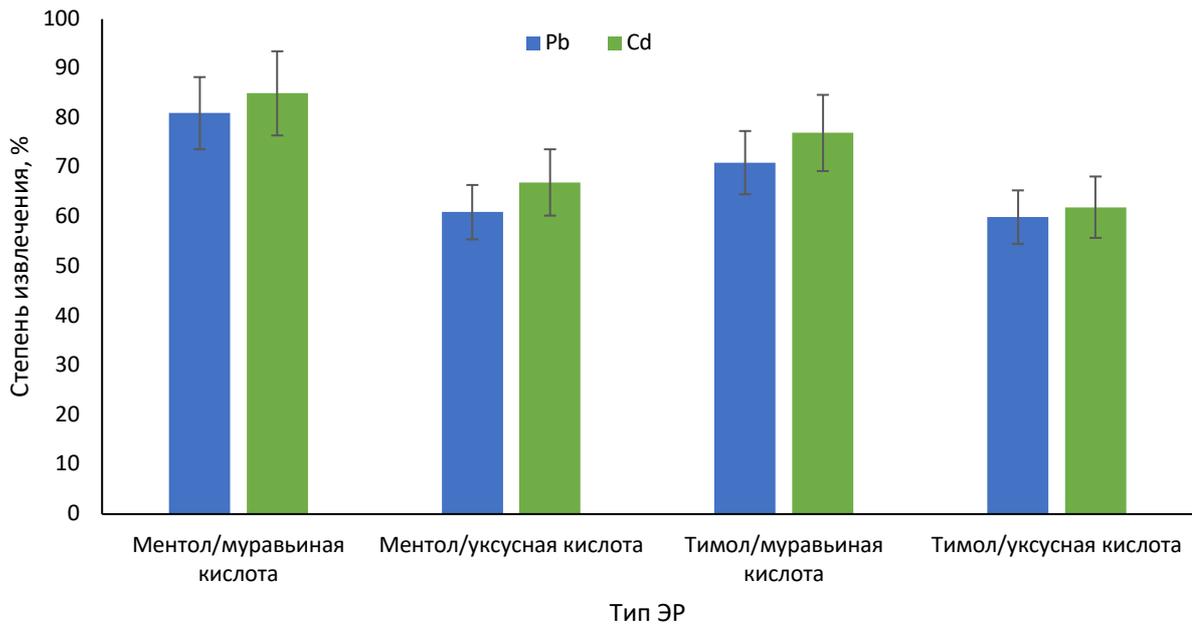


Рисунок 47 – Влияние состава ЭР на степень извлечения металлов (n=3, объем пробы – 0,5 мл, объем ЭР – 0,5 мл, концентрация металлов 1 мкг/кг)

Это объясняется более высокой кислотностью экстракта в присутствии муравьиной кислоты (рКа муравьиной и уксусной кислот 3,75 и 4,76 соответственно). Также муравьиная кислота чаще входит в состав фонового электролита при последующем электрохимическом детектировании металлов. Поэтому данную кислоту выбрали в качестве компонента ЭР. Тимол и ментол обеспечивают примерно одинаковые значения степени извлечения металлов, однако тимол, являясь более полярным компонентом лучше растворяется в фазе кислоты после процесса экстракции, что приводит как увеличению объема данной фазы, что снижает концентрирование, а также оказывает большее мешающее влияние на проведение электрохимического анализа. Таким образом, ЭР на основе ментола, муравьиной кислоты и воды был выбран для дальнейших исследований.

Для достижения максимальных коэффициентов концентрирования был изучен объем ЭР, который варьировался от 1,00 до 0,25 мл при фиксированном объеме пробы 5 мл. Увеличение объема ЭР приводило к увеличению объема фазы экстрагента и эффекту разбавления. Минимальные значения СКО (<5%) и близкие к максимальным значениям коэффициентов концентрирования наблюдались при объеме ЭР 0,3 мл (Рисунок 48).

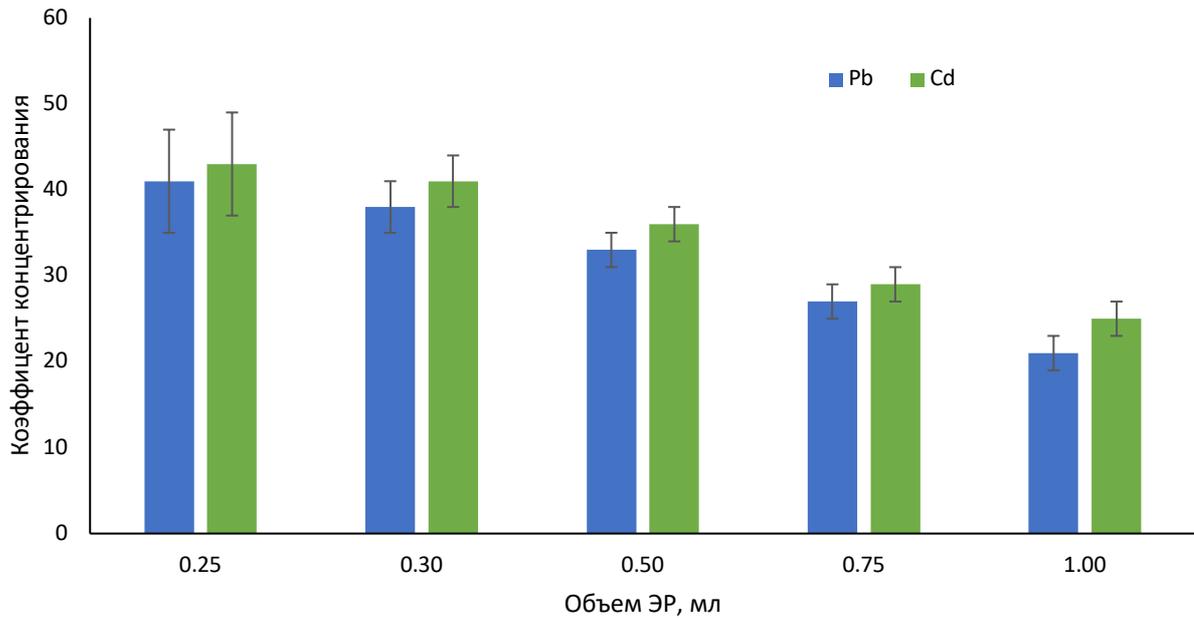


Рисунок 48 – Влияние объема ЭР (ментола, муравьиная кислота (1/1) и вода (3%)) на коэффициент концентрирования ($n=3$, объем пробы – 5 мл, концентрация металлов 1 мкг/кг)

Так как в данном случае в качестве объекта анализа выступает вязкое органическое масло, для установления равновесия экстракции требуется продолжительное время, в отличие от анализа водных растворов. Было обнаружено, что наибольшие значения степени извлечения (81–85 %) достигались через 5 мин после введения образца (Рисунок 49). Время центрифугирования также изучалось в диапазоне от 1 до 10 мин, и 5 мин было достаточно для полного разделения полученной эмульсии.

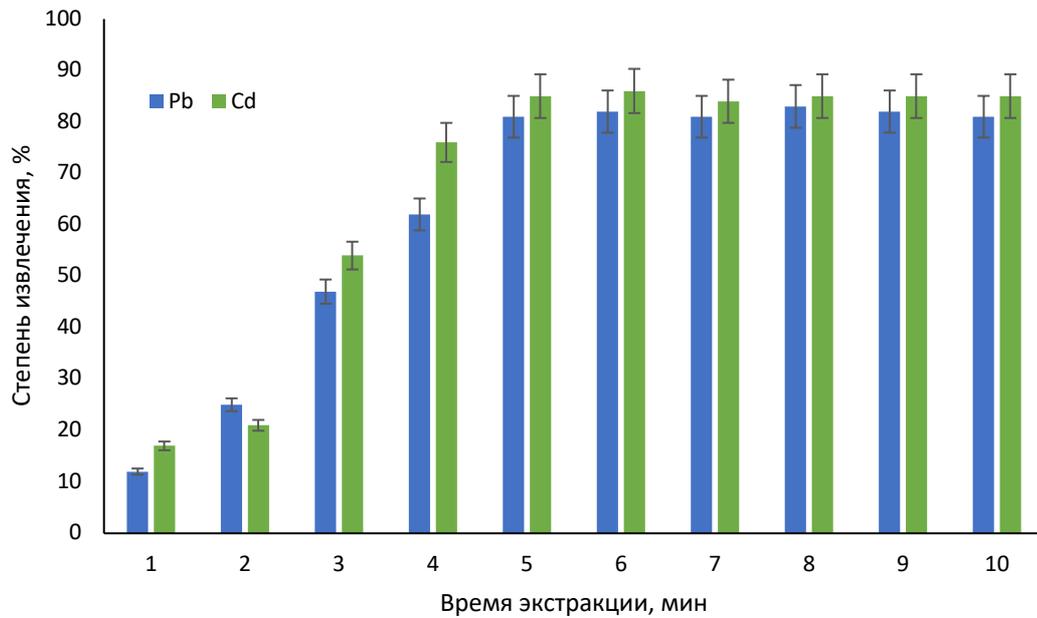


Рисунок 49 – Влияние времени экстракции на степень извлечения металлов (n=3, объем пробы – 5 мл, концентрация металлов 1 мкг/кг)

Так как пищевые масла содержат разнообразные полярные органические соединения, которые могут извлекаться в полярные экстрагенты и вступать в окислительно-восстановительные процессы на электроде, было необходимо изучить их потенциальное мешающее влияние. Было изучено влияние полярных органических компонентов растительных масел, таких как галловая кислота, протокатеховая кислота, тирозол, ванилиновая кислота, р-кумариновая кислота и сиригальдегид, а также других металлов, таких как калий, натрий, кальций, магний, железо, марганец, медь, цинк. Мешающее влияние изучалось при постоянной концентрации аналитов (1 мкг/кг) и различных концентрациях мешающих компонентов в пробе на уровне их среднего содержания в реальных пробах. Предварительно масло промывали смесью метанола и воды (2/1) для удаления мешающих соединений и сушили. Степень очистки контролировали методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Результаты показали, что изученные соединения не имели заметного мешающего эффекта из-за отсутствия комплексообразования аналитов в кислой среде с данными веществами и селективности выбранного метода анализа.

В выбранных условиях (Таблица 18) максимальные степени извлечения для свинца и кадмия составили 81 ± 3 % и 85 ± 3 % соответственно. Диапазоны определяемых концентраций составили от 0,03 до 50 мкг/кг для свинца ($R^2=0,996$) и от 0,02 до 50 мкг/кг для кадмия ($R^2=0,995$). Пределы обнаружения были равны 0,01 мкг/кг для свинца и 0,006 мкг/кг для кадмия, пределы определения были равны 0,03 мкг/кг для свинца и 0,02 мкг/кг для кадмия. Прецизионность в условиях повторяемости не превышала 6 % для обоих аналитов. Повторяемость разработанной процедуры определяли путем анализа 10 повторных измерений рабочих растворов металлов в подсолнечном масле. Воспроизводимость предлагаемой процедуры оценивалась с использованием 2 разных приборов в 2 разных лабораториях в разное время. Значения СКО во всех случаях было ниже 10%. Коэффициенты концентрирования для свинца и кадмия составляли 36 и 39 соответственно. Полученные результаты были опубликованы в работе [273].

Таблица 18 – Аналитические характеристики разработанного способа определения металлов в пищевых маслах

Параметр	Значение (Pb)	Значение (Cd)
Диапазон определяемых концентраций, мкг/кг	0,03-50	0,02-50
R^2	0,996	0,995
Предел обнаружения (3σ), мкг/кг	0,01	0,006
Предел определения (10σ), мкг/кг	0,03	0,02
Степень извлечения, %	81	85
Коэффициент концентрирования	36	39
Повторяемость (ОСКО, $n=3$), % ($C = 1$ мкг/кг)	6	6
Внутрилабораторная воспроизводимость (ОСКО, $n=3$), % ($C = 1$ мкг/кг)	10	10

Предлагаемая процедура была использована для определения свинца и кадмия в трех образцах пищевых масел (подсолнечное, рапсовое и оливковое).

Правильность получаемых результатов была подтверждена методом «введено-найденно» и с использованием независимой процедуры. В качестве независимой процедуры анализа использовали метод ИСП-ОЭС с предварительным микроволновым разложением образца. Во всех образцах содержание металлов было ниже пределов обнаружения обоих методов. Правильность получаемых результатов процедуры была подтверждена методом «введено-найденно». Полученные результаты показали, что нет значительных различий в концентрациях металлов, найденных по предложенной и независимой процедуре (Таблица 19). Значения $F < 19.00$ указывают на незначительное различие в точности между разработанным и референтным методами на уровне доверия 95%. Значения $t < 2.78$ указывают на незначительное различие между результатами, полученными этими процедурами ($n = 4$).

Кроме того, для оценки правильности результатов использовали СО содержания металлов в масле (СМН-ПА). В этом случае применяли t-тест для установления статистической значимости результатов. Результаты показали, что нет статистических различий между сертифицированными и полученными значениями (Таблица 19). Полученные результаты соответствовали сертифицированным значениям ($t_{exp} < t_{cr}$).

Таблица 19 – Результаты определения металлов в пробах пищевых масел методом ИВА (n=3, P=0,95, F=19,00, t = 2,78)

Проба	Аналит	Концентрация мкг/кг			F – критерий	t - критерий	Относительное смещение, %
		Введено	Найдено по предложенной процедуре	Найдено методом ИСП			
Подсолнечное масло	Pb	0	<ПО	<ПО	-	-	-
		10	9,1±0,5	9,3±0,4	8,21	0,73	9
	Cd	0	<ПО	<ПО	-	-	-
		10	8,4±0,4	9,6±0,3	12,11	1,11	16
Рапсовое масло	Pb	0	<ПО	<ПО	-	-	-
		2,5	2,2±0,1	2,4±0,2	7,76	1,61	12
	Cd	0	<ПО	<ПО	-	-	-
		2,5	2,4±0,2	2,3±0,2	5,12	0,54	4
Оливковое масло	Pb	0	<ПО	<ПО	-	-	-
		5	5,11±0,32	5,21±0,21	8,11	0,98	2
	Cd	0	<ПО	<ПО	-	-	-
		5	4,91±0,21	5,14±0,22	15,42	0,54	2
СМН-ПА	Pd	10,0	9,2±0,4	9,7±0,3	8,11	0,51	8
	Cd	10,0	9,8±0,5	9,5±0,2	6,41	1,23	2

Таким образом, было показано, что трехкомпонентные эвтектические растворители на основе терпеноидов, карбоновых кислот и воды могут быть использованы для обращенно-фазовой дисперсионной жидкостной микроэкстракции свинца и кадмия из образцов пищевых масел. Разработанная процедура не требует микроволнового разложения пробы с использованием агрессивных окислителей для определения металлов. Разработанная процедура может рассматриваться как альтернатива микроволновому разложению для элементного анализа пищевых образцов. В сравнении с другими способами на основе обращенно-фазовой дисперсионной жидкостной микроэкстракции предлагаемая процедура может рассматриваться как более экологически безопасная, так как не использует опасные органические растворители. В то же

время аналитические характеристики разработанной процедуры сопоставимы с предлагаемыми в литературе. Кроме того, поскольку после процедуры микроэкстракции была получена водная фаза, предлагаемый подход потенциально может быть совмещен с другими методами анализа, такими как ВЭЖХ-УФ или ВЭЖХ-МС и спектральные методы.

Однако, несмотря на эффективность предложенных процедур реализации стадии ДЖМЭ, все они ориентированы, в первую очередь, на анализ жидких проб. Однако, часто возникают задачи анализа твердофазных объектов.

В литературе показано, что ЭР, особенно на основе кислот, могут быть не только эффективными экстрагентами при реализации процедуры жидкостной микроэкстракции, а также они могут быть использованными для извлечения аналитов из твердофазных проб, особенно пищевых продуктов. Это связано с возможностью данных ЭР эффективно разрушать матрицу пробы с извлечением аналитов. Таким образом становится возможным реализация двухстадийных процессов, основанных на извлечении аналитов из твердофазных продуктов с последующим концентрированием аналитов при реализации стадии ДЖМЭ. В рамках данной работы с целью расширения аналитических возможностей ДЖМЭ с точки зрения возможных объектов анализа был предложен способ для пробоподготовки твердофазных проб. Для этого была разработана двухстадийная процедура, включающая извлечение аналитов в фазу квазигидрофобного ЭР из твердофазного объекта и их последующее концентрирование на принципах ДЖМЭ, основанной на разрушении ЭР при контакте с водной фазой. Способ использовался для ВЭЖХ-УФ определения сульфаниламидов в курином мясе. Сульфаниламиды являются синтетическими противомикробными лекарственными веществами, используемыми в ветеринарной медицине для профилактики и лечения инфекционных заболеваний. Остатки этих веществ в пищевых продуктах животного происхождения могут представлять угрозу для здоровья человека. В связи с этим необходимо разрабатывать эффективные способы контроля содержания сульфаниламидов в пищевых продуктах. Традиционные методы экстракции, такие как жидкостная экстракция и твердофазная экстракция,

обладают рядом недостатков, включая использование большого объема органических растворителей и сложность процедуры. В этом аспекте микроэкстракция с использованием ЭР представляет собой перспективный способ, который может решить эти проблемы. Для реализации данной идеи были приготовлены двухкомпонентные и трехкомпонентные ЭР на основе четвертичных аммонийных соединений, кислот и спиртов, которые изготавливали путем смешивания соответствующих компонентов при 60 °С в течение 30 мин. Полученные растворители хранились при в холодильнике в закрытом сосуде.

Согласно предложенной процедуре, (Рисунок 50) гомогенизированный образец помещали в центрифужную пробирку вместимостью 15 мл и сверху добавляли ЭР. Пробирку помещали в ультразвуковую ванну для извлечения аналитов в фазу ЭР. Затем в пробирку с помощью шприца быстро вводили деионизированную воду, что приводило к растворению полярных компонентов ЭР и разрушению ЭР, а также к образованию фазы, обогащенной неполярным компонентом ЭР. Эта фаза служила экстрагентом для извлечения и концентрирования аналитов (сульфаниламидов). Полученную суспензию центрифугировали, верхнюю органическую фазу отбирали и анализировали методом ВЭЖХ-УФ.

В работе [274] сообщалось, что жирные кислоты являются эффективными экстрагентами для извлечения сульфаниламидов из водной пробы, поэтому данные кислоты были выбраны в качестве экстрагента и в качестве компонента ЭР. Вторым компонентом ЭР был выбран тетрабутиламмоний бромид. При смешивании ЭР на основе данных соединений с водным раствором аналитов происходит разрушение ЭР, и сульфаниламиды экстрагируются в фазу жирных кислот. Было изучено влияние типа кислоты в составе ЭР на степень извлечения аналитов. Для этого готовили ЭР, в состав которых входили кислоты от гексановой до декановой. 10 мл раствора сульфаниламидов при рН 2 смешивали с 1 мл ЭР, что приводило к его разрушению и извлечению аналитов в фазу, обогащенную кислотой. Данный рН был выбран на основании литературных данных, так как при

этой кислотности среды сульфаниламиды находятся в молекулярных формах, что обеспечивает их экстракцию в фазу гексановой кислоты.

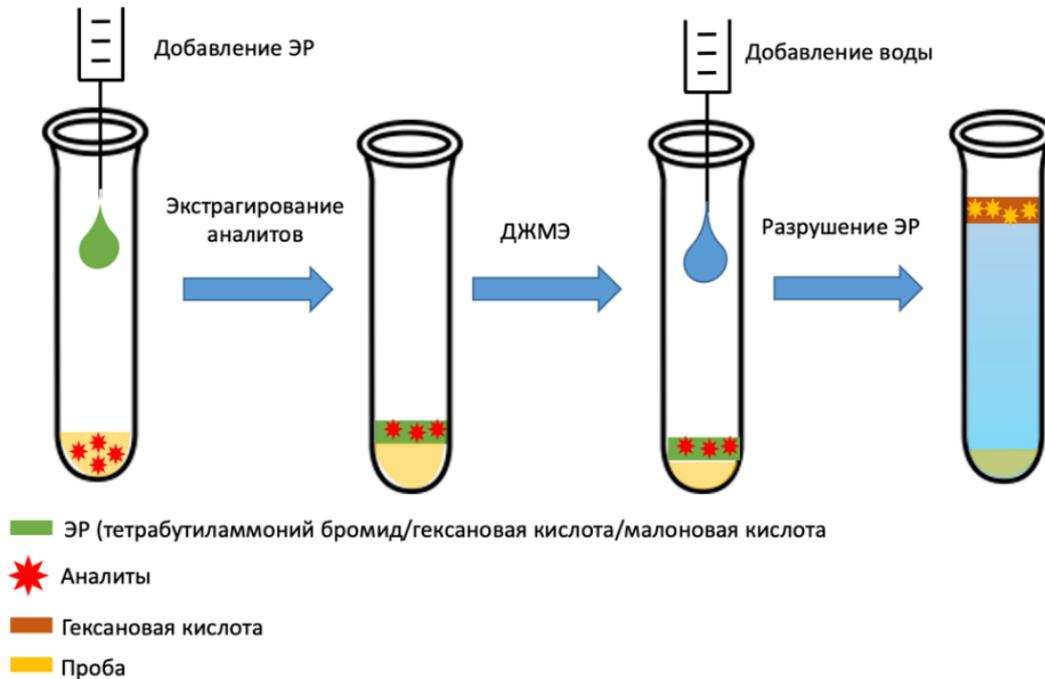


Рисунок 50 – Двухстадийная схема дисперсионной жидкостной микроэкстракции с использованием эвтектического растворителя в качестве экстрагента и диспергатора для анализа твердофазных проб

Было обнаружено, что гексановая кислота обеспечивает более эффективное извлечение обоих аналитов (Рисунок 51), что связано с ее большей полярностью, по сравнению с другими исследуемыми кислотами, что подтверждается литературными данными. Таким образом, гексановая кислота была выбрана в качестве экстрагента и компонента ЭР. На следующем этапе данный ЭР был использован для извлечения сульфаниламидов из твердофазной пробы. Для этого 1 г образца мяса смешивали с 2 г ЭР на основе тетрабутиламмония бромид и гексановой кислоты (1/2, моль/моль) и нагревали в течение 60 мин при температуре 70 °С в ультразвуковой ванне (325 Вт, 35 кГц). После этого в суспензию вводили 10 мл водного раствора соляной кислоты (рН 2,0) для разрушения ЭР и экстракции аналитов в фазу гексановой кислоты. Было обнаружено, что данный ЭР обеспечивал низкую степени извлечения аналитов из твердофазной пробы

(Рисунок 52). Это было связано с тем, что высокая вязкость ЭР и его слабая кислотность могут быть причиной не эффективного массопереноса из твердой фазы. Для повышения эффективности процесса в ЭР был введен третий компонент. Для этого были выбраны три наиболее часто используемые для изготовления ЭР карбоновые кислоты (муравьиная, уксусная, малоновая) и три спирта (глицерин, этиленгликоль, бутандиол).

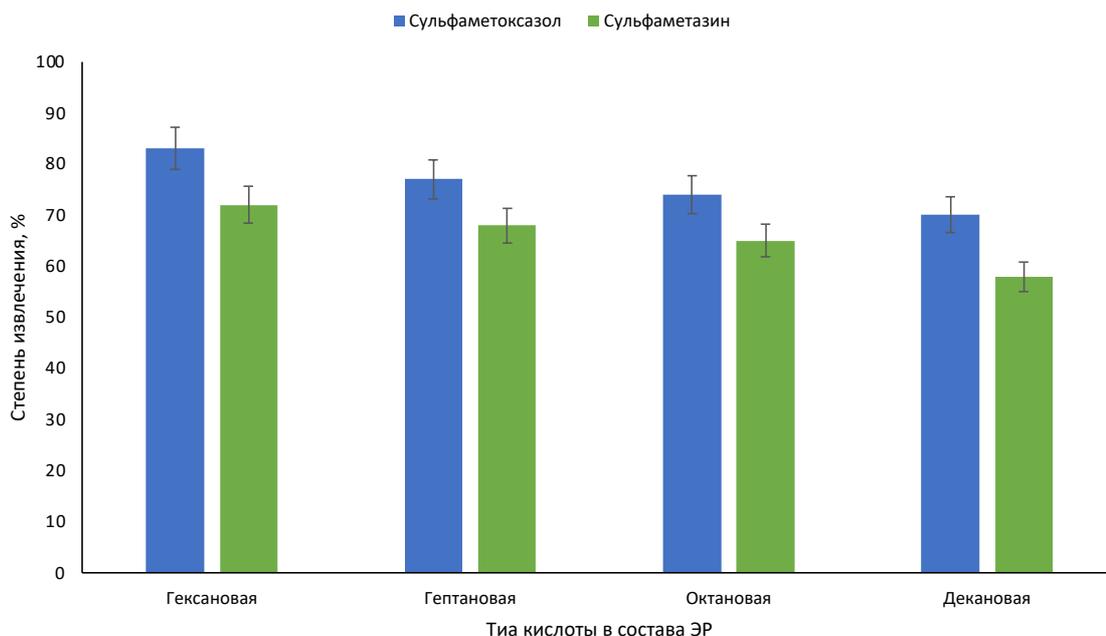


Рисунок 51 – Влияние природы карбоновой кислоты в составе ЭР на степень извлечения сульфниламидов из водной фазы ($n=3$, C аналитов – 1 мг/л)

Добавление спиртов и кислот позволило понизить вязкость ЭР и повысить эффективность процесса извлечения аналитов более, чем в два раза (Рисунок 52). Максимальные степени извлечения наблюдались для карбоновых кислот, что обеспечивалось условиями для ионизации аналитов в фазе ЭР как следствие усиления массопереноса. Также кислотные ЭР более эффективно могут разрушать матрицу пищевого продукта, что будет способствовать более эффективному извлечению аналитов. При этом малоновая кислота в составе ЭР оказалась более эффективной, чем муравьиная (pK_a 3,75) и уксусная (pK_a 4,76) кислоты из-за более сильной кислотности (pK_a (I) 1,38). Таким образом, в качестве третьего компонента ЭР была выбрана малоновая кислота.

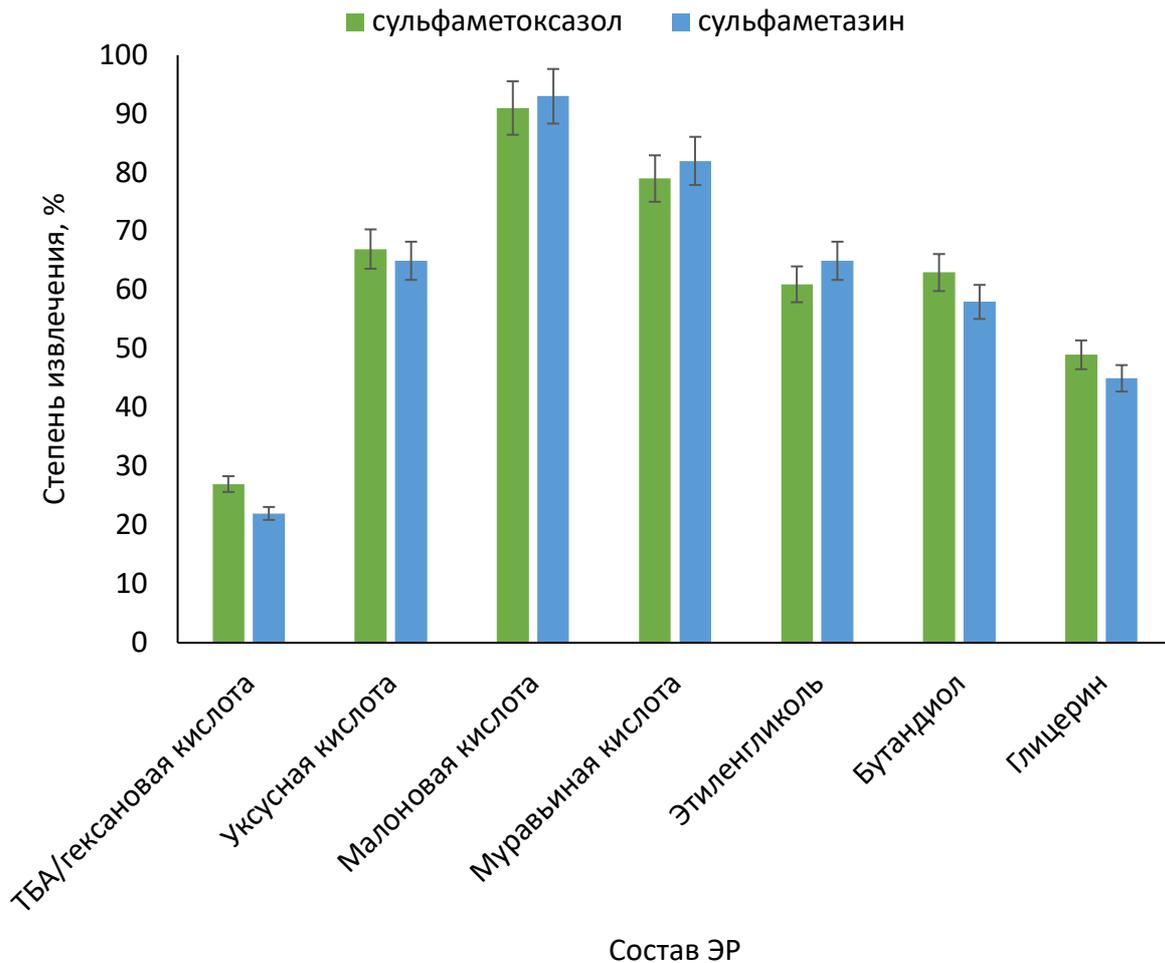


Рисунок 52 – Влияние состава ЭР на степени извлечения аналитов из образца куриного мяса ($n=3$, масса образца – 1 г, масса ЭР – 2 г, соотношение компонентов ЭР 1/1/1 моль/моль, время экстракции – 60 мин)

Введение дополнительного компонента в состав ЭР приводит к увеличению общего объема ЭР для выделения аналитов из проб мяса и к уменьшению объема гексановой кислоты, который в итоге выделяется на стадии ДЖМЭ, что увеличивает коэффициент концентрирования. Поэтому было исследовано соотношение компонентов в составе ЭР тетрабутиламмония бромид/гексановая кислота/малоновая кислота. Увеличение содержания тетрабутиламмония бромида или малоновой кислоты (2/1/1 и 1/1/2) приводило к образованию кристаллических смесей. Увеличение содержания гексановой кислоты (1/2/1) приводило к увеличению ее объема после реализации процедуры ДЖМЭ, что приводило к эффекту разбавления. Таким образом, оптимальным составом ЭР был выбран

состав тетрабутиламмоний бромид / малоновая кислота / гексановая кислота (1 / 1 / 1, моль / моль / моль).

С выбранным ЭР были изучены и оптимизированы такие параметры, как соотношение проба/ЭР, время и температура процесса извлечения аналитов из твердофазной пробы. Минимальная масса ЭР, необходимая для полного смачивания 1,0 г образца куриного мяса, составляла 2,0 г. Более высокое количество ЭР приводило к уменьшению площадей хроматографических пиков из-за эффекта разбавления. Малоновая кислота декарбоксилируется при температуре выше 70 °С с образованием уксусной кислоты [275]. Для исключения разложения ЭР исследовали диапазон температур от 40 до 60 °С. Результаты показали (Рисунки 53 и 54), что температура 50 °С в течение 30 мин обеспечивает условия для удовлетворительного извлечения обоих аналитов. Значения степени извлечения составили $85 \pm 3 \%$ и $89 \pm 4 \%$ для сульфаметазина и сульфаметоксазола соответственно.

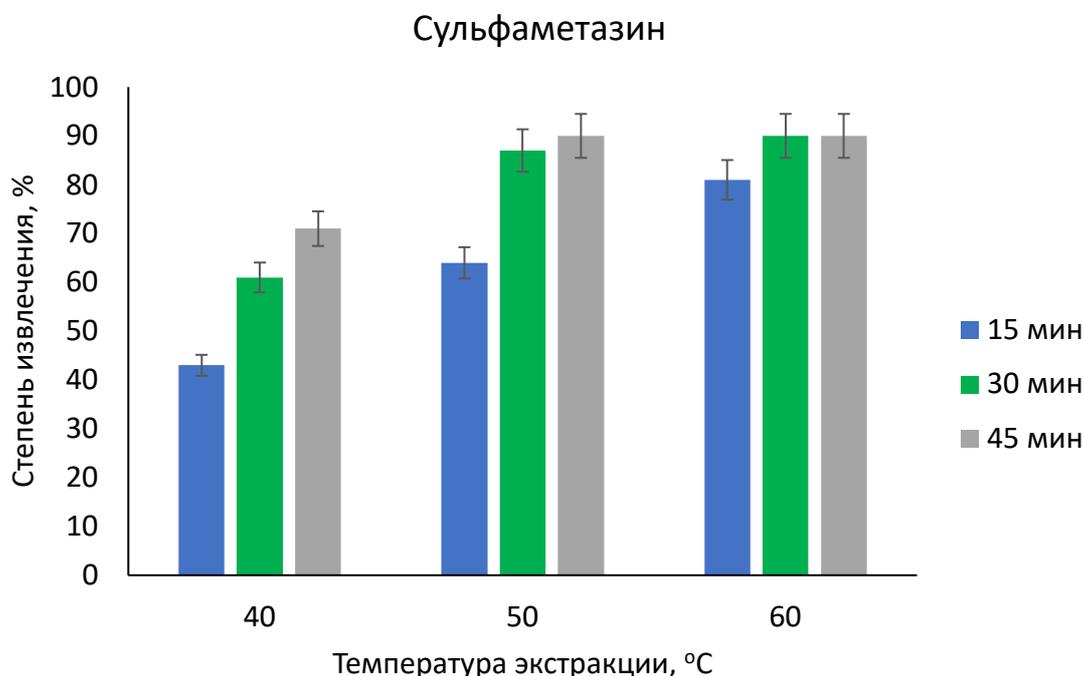


Рисунок 53 – Влияние температуры и времени на степень извлечения сульфаметазина из пробы куриного мяса (n=3, масса пробы – 1 г, концентрация аналитов 1 мг/кг, масса ЭР – 2 г)

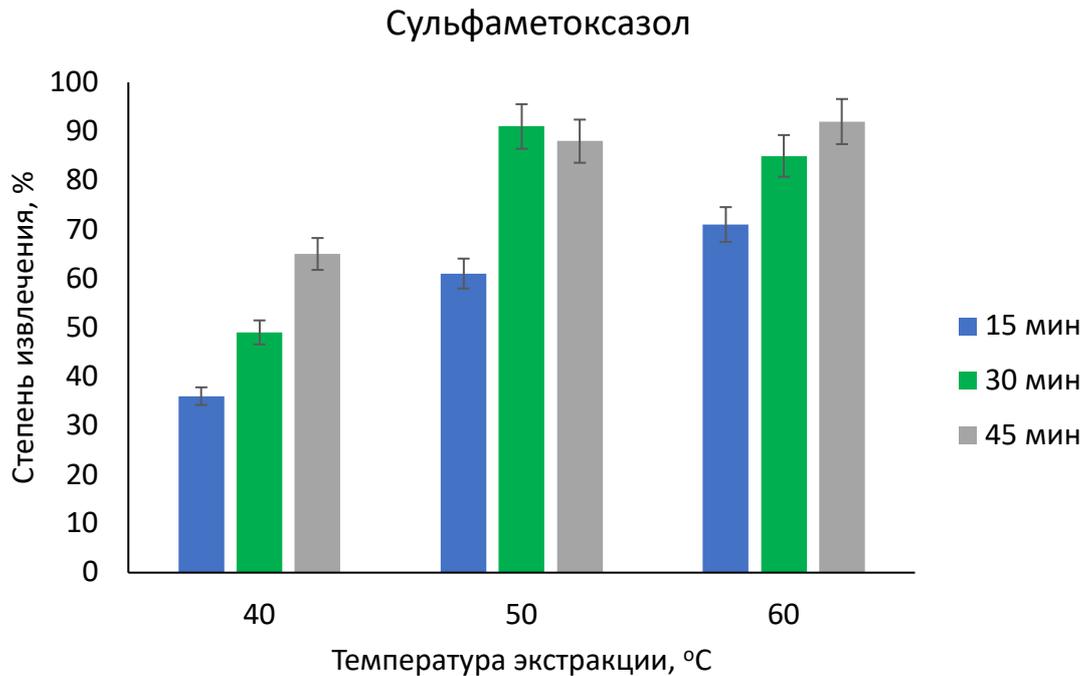


Рисунок 54 – Влияние температуры и времени на степень извлечения сульфаметоксазола из пробы куриного мяса (n=3, масса пробы – 1 г, концентрация аналитов 1 мг/кг, масса ЭР – 2 г)

После процедуры извлечения в смесь вводили дистиллированную воду для разрушения ЭР. Это позволило сократить время процедуры за счет устранения стадии разделения смеси проба/экстрагент на этапе извлечения аналитов из твердофазной пробы. При этом происходило растворение тетрабутиламмония бромида и малоновой кислоты в воде, а также образование фазы гексановой кислоты и экстракция аналитов. В этом случае также устранялась необходимость вводить дополнительную соляную кислоту, поскольку растворение малоновой кислоты в воде обеспечивало оптимальный уровень кислотности для экстракции сульфаниламидов (рН 2,0). Объем водной фазы, необходимый для разрушения фазы ЭР, варьировался от 5 до 15 мл. Было обнаружено (Рисунок 55), что с увеличением объема водной фазы до 10 мл площади пиков увеличиваются. Это указывало на то, что при объеме 10 мл ЭР был полностью разрушен и наблюдалось постоянство объема выделившийся фазы гексановой кислоты.

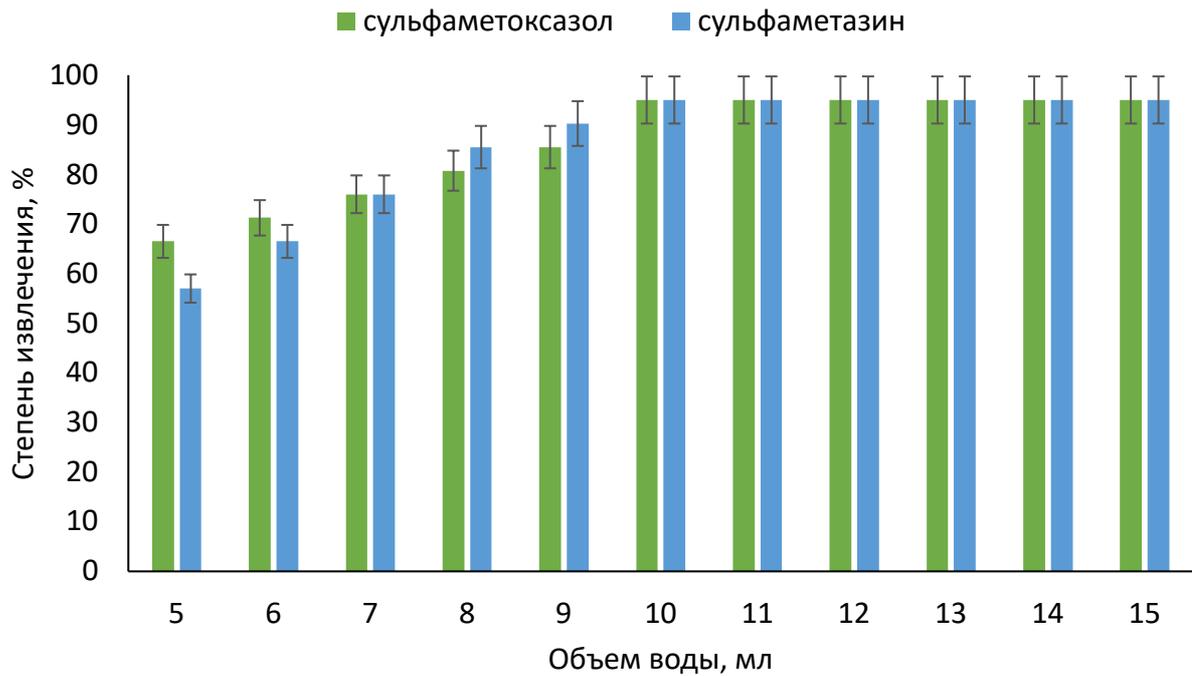


Рисунок 55 – Влияние объема воды на степень извлечения аналитов (n=3, масса пробы – 1 г, концентрация аналитов 1 мг/кг, масса ЭР – 2 г)

Так как анализ реального объекта должен учитывать потенциальное мешающее влияние других лекарственных веществ, некоторые широко используемые антибиотики также были добавлены к пробе, чтобы определить область применимости предложенной процедуры. Мешающее влияние изучали путем добавления известных концентраций следующих антибиотиков: тетрациклинов (тетрациклин, окситетрациклин и доксициклин,) и фторхинолонов (флероксацин, норфлоксацин и офлоксацин), – в раствор сульфаниламидов, используемых для приготовления образцов куриного мяса с добавками. Результаты показали, что изученные соединения не перекрываются с хроматографическими пиками аналитов. С этой точки зрения предлагаемую процедуру можно считать селективной. Также селективность процедуры достигалась двухстадийной пробоподготовкой: извлечением аналитов в фазу ЭР из пробы куриного мяса и концентрированием аналитов в фазу гексановой кислоты.

В оптимальных условиях были оценены следующие аналитические характеристики предложенной процедуры, такие как диапазон определяемых концентраций, коэффициенты корреляции, пределы обнаружения, пределы

определения, повторяемость, коэффициент концентрирования и степень извлечения (Таблица 20). Градуировочные графики имели линейный характер в диапазонах концентраций 9-500 мкг/кг для сульфаметоксазола и 21-1000 мкг/кг для сульфаметазина с квадратичными коэффициентами регрессии (R^2) 0,997 и 0,995 соответственно. Пределы обнаружения (рассчитанные как трехкратное стандартное отклонение пяти холостых измерений) для сульфаметоксазола составили 3 мкг/кг и 7 мкг/кг для сульфаметазина. Пределы определения (рассчитанные как десятикратное стандартное отклонение пяти холостых измерений) для сульфаметоксазола составили 9 мкг/кг и 21 мкг/кг для сульфаметазина. Значения ОСКО в условиях повторяемости и внутрилабораторной воспроизводимости (концентрация аналитов 100 мкг/кг) составили 7,9–8,1 % и 8,5–9,9 % соответственно.

Таблица 20 – Аналитические характеристики разработанного способа определения сульфаниламидов в твердофазных мясных пищевых продуктах

Параметр	Сульфаметоксазол	Сульфаметазин
Диапазон определяемых концентраций, мкг/кг	9-500	21-1000
R^2	0,997	0,995
Предел обнаружения (3σ), мкг/кг	3	7
Предел определения (10σ), мкг/кг	9	21
Степень извлечения, %	89	85
Повторяемость (ОСКО, $n=3$), % ($C = 100$ мкг/кг)	7,9	8,1
Внутрилабораторная воспроизводимость (ОСКО, $n=3$), % ($C = 100$ мкг/кг)	9,5	9,9

Способ был применен для оценки содержания сульфаниламидов в пробах куриного мяса (Таблица 21). Правильность результатов подтверждали методом «введено-найдено». Концентрации аналитов во всех реальных пробах были меньше

ПО. Введённые и найденные значения концентраций удовлетворительно совпадают. Полученные результаты были опубликованы в работе [276].

Таблица 21 – Результаты определения сульфаниламидов в образцах куриного мяса (n=3, P=0,95)

Образец	Аналит	Концентрация аналитов, мкг/кг		Относительное смещение, %
		Введено	Найдено	
1	сульфаметазин	0	<ПО	-
		50	47±4	7
		100	105±6	5
	сульфаметоксазол	0	<ПО	-
		50	48±3	4
		100	94±5	6
2	сульфаметазин	0	<ПО	-
		100	92±5	8
		200	207±7	4
	сульфаметоксазол	0	<ПО	-
		100	96±6	4
		200	175±6	13
3	сульфаметазин	0	<ПО	-
		50	43±3	14
		100	109±4	9
	сульфаметоксазол	0	<ПО	-
		50	47±4	6
		100	101±6	1

Таким образом, в рамках данного исследования была разработана простая процедура пробоподготовки образцов куриного мяса, основанная на использовании трехкомпонентного эвтектического растворителя. Для извлечения

и концентрирования сульфаниламидов был изготовлен новый трехкомпонентный эвтектический растворитель, содержащий тетрабутиламмония бромид, малоновую кислоту и гексановую кислоту. Процедура пробоподготовки была успешно использована для определения сульфаметазина и сульфаметоксазола методом ВЭЖХ-УФ в реальных образцах куриного мяса. По сравнению с традиционными способами извлечения антибиотиков из пищевых продуктов, предложенный способ позволил полностью отказаться от использования органических растворителей на стадии экстракции.

Таким образом, были показаны новые возможности, связанные с применением эвтектических растворителей в процедурах дисперсионной жидкостной микроэкстракции. Основное внимание уделялось преимуществам использования различных ЭР для решения разнообразных аналитических задач, таких как экстракция бисфенола А, эстрадиола, тяжелых металлов и сульфаниламидов из различных объектов анализа. Проведенные исследования демонстрируют, как ЭР могут существенно улучшить эффективность и экологичность подходов ДЖМЭ, расширяя их область применения и обеспечивая высокую точность и воспроизводимость результатов.

Одной из ключевых идей, представленных в данной главе, является использование ЭР в качестве диспергаторов и экстрагентов одновременно. Это позволяет значительно упростить процедуры экстракции, что особенно полезно при извлечении аналитов из различных матриц, таких как лекарственные препараты и пищевые продукты.

В качестве основных выявленных закономерностей использования ЭР в процессе реализации ДЖМЭ можно выделить возможность индивидуального подбора компонентов ЭР, что позволит добиваться более эффективного извлечения аналитов различных классов. Так, было показано, что использование менее полярных жирных спиртов позволяет извлекать неполярные и слабополярные аналиты, такие как бисфенол А или эстрадиол. Для извлечения более полярных сульфаниламидов наибольшую эффективность экстракции обеспечивают более полярные жирные кислоты в составе ЭР. Для извлечения металлов из неполярных

матриц более эффективными являются полярные органические кислоты. Другой закономерностью является повышение степени извлечения аналитов из водной фазы в органическую при замене традиционных органических диспергаторов на ЭР, что также может быть эффективно использовано при правильном подборе состава ЭР.

Таким образом результаты показывают, что различные компоненты ЭР, такие как кислоты, спирты и четвертичные аммонийные соединения, могут значительно влиять на процесс экстракции. Выбор оптимальных составов ЭР для конкретных задач позволяет достичь максимальной эффективности и надежности методов.

Перспективы использования ЭР в методах ДЖМЭ включают дальнейшую оптимизацию их состава и условий экстракции для расширения области применения. Исследования, направленные на понимание механизмов взаимодействия ЭР с различными матрицами, помогут улучшить универсальность предлагаемых способов и их адаптацию к специфическим требованиям различных аналитических задач.

Таким образом, эвтектические растворители открывают новые возможности для аналитической химии, предлагая новые решения для улучшения существующих способов экстракции и анализа.

Глава 5. Жидкостная микроэкстракция с *in situ* образованием эвтектических растворителей

Чаще всего ЭР рассматриваются как экстрагенты для извлечения аналитов по механизму физического распределения. Однако сами аналиты или компоненты матрицы пробы могут выступать в качестве прекурсоров ЭР. Это открывает новые возможности реализации ЖМЭ на принципах образования ЭР в процессе экстракции. В качестве иллюстрации данных возможностей в данном исследовании был предложен новый подход к микроэкстракции нестероидных противовоспалительных веществ (НПВВ) из образцов мочи человека основанный на *in situ* образовании ЭР. Процедура предполагает извлечение НПВВ из водной фазы за счет образования водородных связей между экстрагентом – терпеноидом и аналитами.

Предложенная процедура включала несколько этапов (Рисунок 56). На первом этапе к образцу мочи добавляли ацетатный буферный раствор и твердый ментол, затем смесь нагревали до температуры плавления ментола (40 °С) для перевода его в жидкое состояние. Полученную смесь образца и жидкого ментола перемешивали, в результате чего наблюдалось образование ЭР между аналитами и ментолом непосредственно в водной фазе образца. На втором этапе смесь образца и жидкой фазы ментола, содержащей ЭР, помещали в холодильную камеру (5 °С) для кристаллизации экстракта. После затвердевания фазы ментола водную фазу отбрасывали. Для проведения анализа методом ВЭЖХ-УФ твердый экстракт растворяли в метаноле.

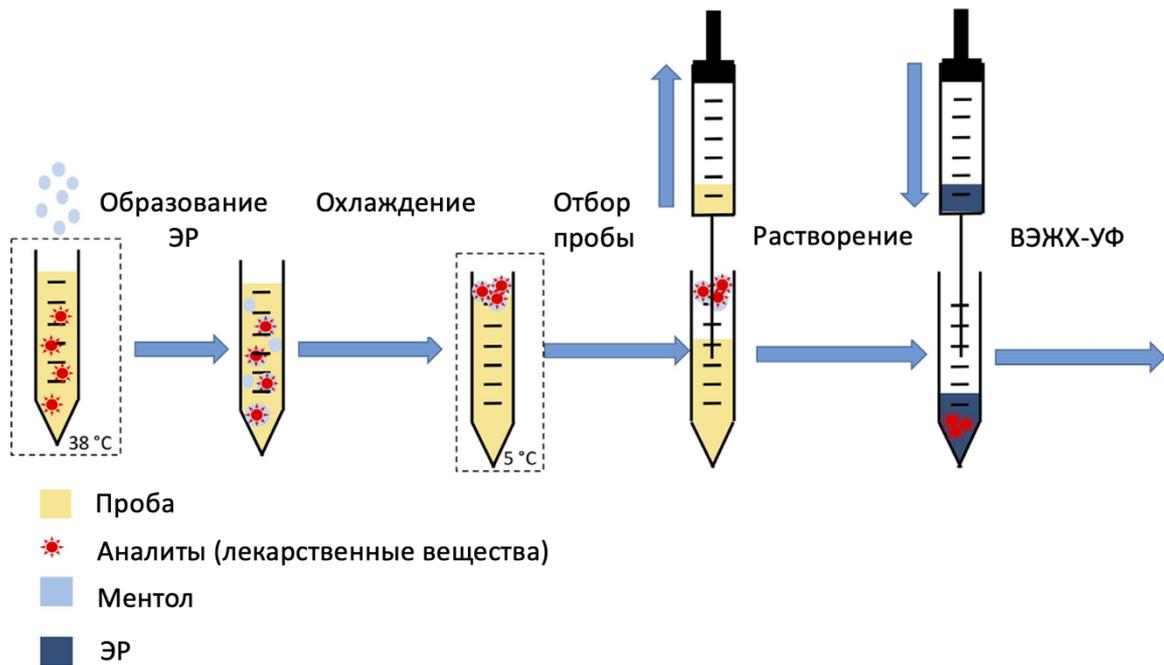


Рисунок 56. Схема жидкостной микроэкстракции НПВВ с *in situ* образованием ЭР с ментолом

В данной работе предполагается, что экстракция аналитов происходит за счет образования ЭР между аналитами (диклофенаки и кетопрофен) и терпеноидом – ментолом. Из литературы известно, что НПВВ образуют жидкие при комнатной температуре эвтектические растворители с ментолом [277]. Такие смеси называют терапевтическими эвтектическими растворителями. Для доказательства образования водородных связей между аналитами и ментолом и понижения температуры данной смеси, был приготовлен раствор диклофенака натрия с концентрацией 50 мг/л, после чего раствор подкисляли соляной кислотой до pH 1, что приводило к образованию двухфазного раствора за счет образования протонированной нерастворимой формы диклофенака и одновременно добавляли 50 мг ментола. После перемешивания раствора с фазой расплавленного ментола водный раствор становился прозрачным, и аналит экстрагировался в фазу ментола. После этого фазу ментола отделяли от раствора, высушивали от воды и анализировали методом ДСК и ИК-спектроскопии для подтверждения образования ЭР. Для учета влияния воды отдельно готовили расплав ментола, смешивали его с

водным раствором соляной кислоты без добавки аналита, отделяли и анализировали в одинаковых условиях методами ИК-спектromетрии и ДСК.

Образцы методом ДСК исследовали в алюминиевых тиглях емкостью 40 мкл. Температурная программа включала два цикла нагрева (скорость нагрева = 10 К/мин) и охлаждения (скорость охлаждения = 1 К/мин) в интервале температур 0-50 °С. Данные второго цикла нагрева использовали для последующего анализа. Ментол, полученный кристаллизацией из расплава в двухфазной системе с водой, демонстрирует наивысшую температуру плавления. Образование эвтектической смеси с диклофенаком происходит уже при его концентрации 1 % в фазе ментола (Рисунок 57). Дальнейшее увеличение содержания диклофенака приводит к смещению температуры начала плавления в область меньших значений. При концентрации диклофенака 25 % фиксируется образование значительного количества фазы с более низкой температурой плавления. При увеличении концентрации диклофенака до 61 % фиксируется значительное снижение теплоты плавления эвтектической смеси с температурой плавления около 39 °С при наличии в системе более легкоплавкой эвтектической смеси. Следует отметить, что общая теплота процессов (интеграл ДСК по времени) уменьшается с увеличением концентрации диклофенака. Это означает снижение общей концентрации низкотемпературных эвтектических смесей в составе системы. Это изменение связано с увеличением концентрации диклофенака и образованием фаз с температурой плавления, близкой к чистому диклофенаку. Таким образом, было подтверждено образование эвтектической смеси. Для более детального исследования механизма образования данной системы был использован метод ИК-спектromетрии. Для доказательства образования или изменения водородных связей между аналитом и терпеноидом были получены ИК-Фурье-спектры ментола, протонированной формы диклофенака и полученной эвтектической смеси (Рисунок 58). Для этого образец эвтектической смеси диклофенак/ментол 10/90 (моль/моль) анализировали методом инфракрасной спектроскопии. Валентное колебание -ОН в чистом ментоле наблюдалось при 3246 см⁻¹, а при

образовании ЭР данный пик смещался до 3263 см^{-1} . При этом валентные колебания $\text{C}=\text{O}$ в диклофенаке сместились с 1965 см^{-1} до 1703 см^{-1} . Следовательно, можно предположить, что образование ЭР наблюдается за счет взаимодействия гидроксильной группы ментола и карбоксильной группы диклофенака, что подтверждает литературные данные. Таким образом, было подтверждено образование эвтектического состояния между ментолом и аналитом, а экстракция протекает за счет образования фазы ЭР в фазе ментола.

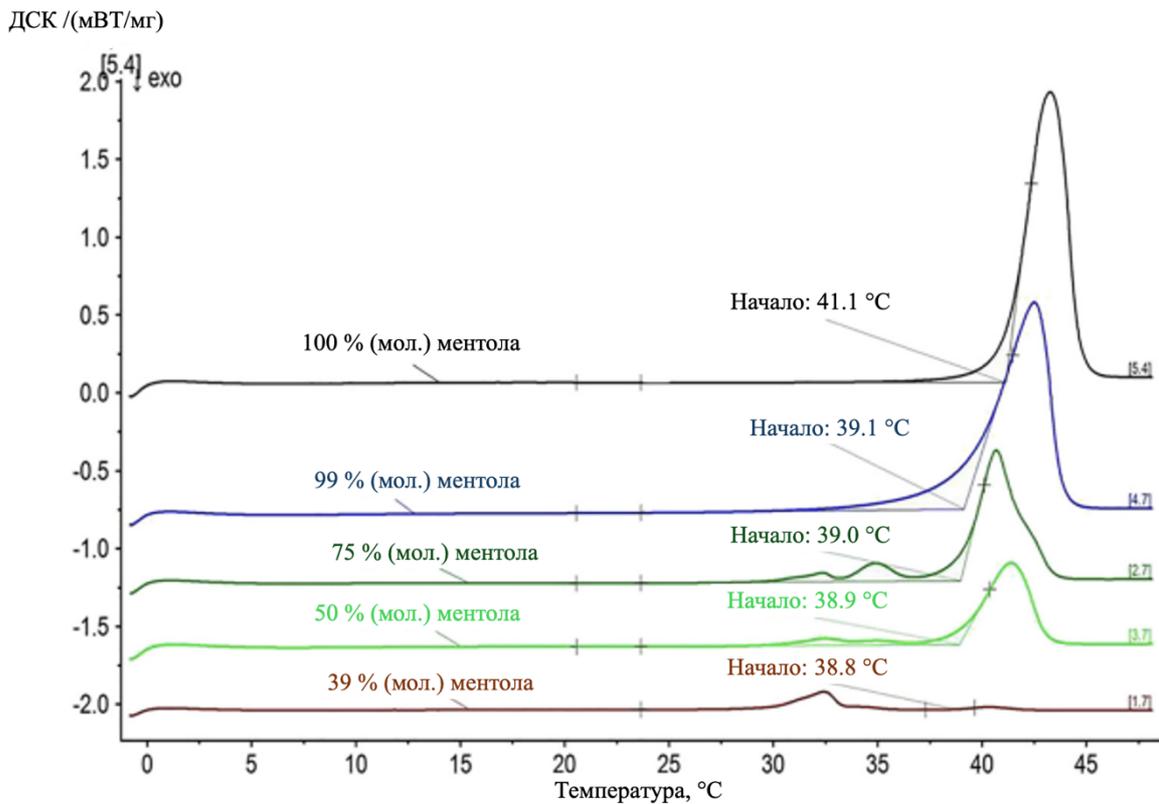


Рисунок 57 – Кривые ДСК для ментола и эвтектических смесей ментола с диклофенаком

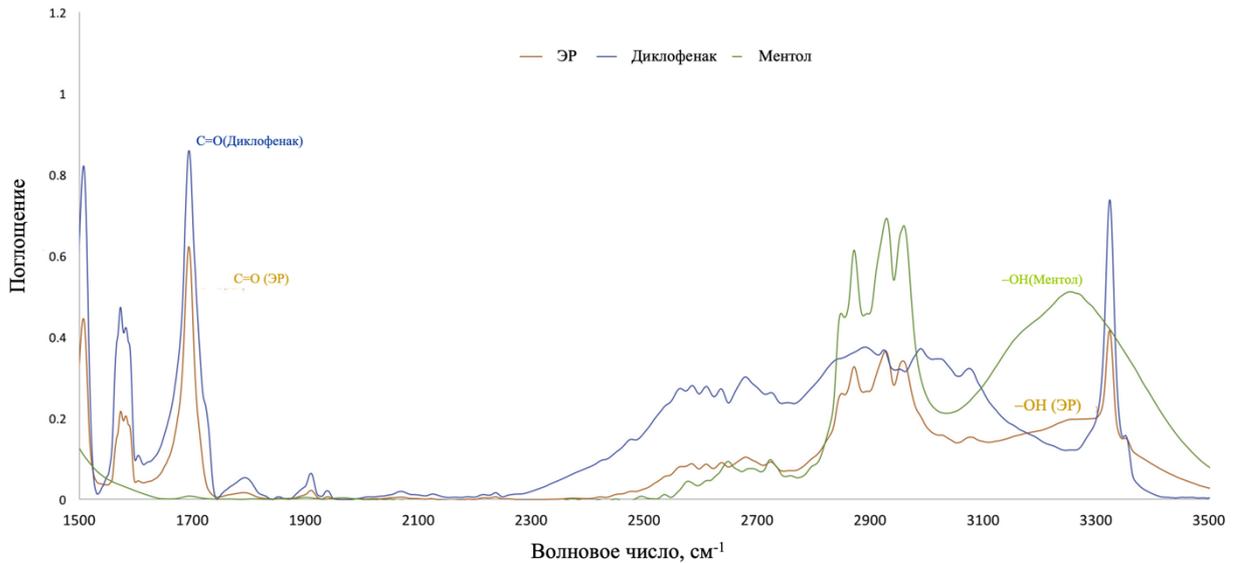
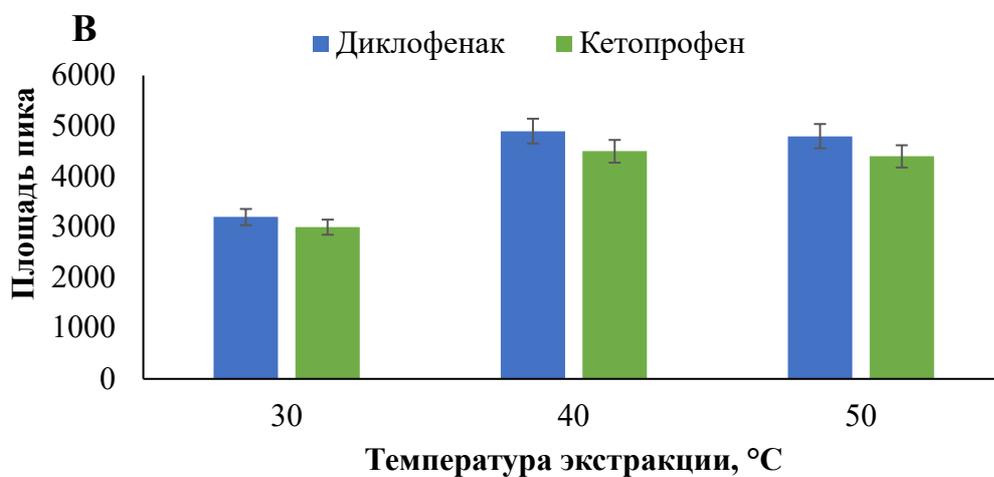
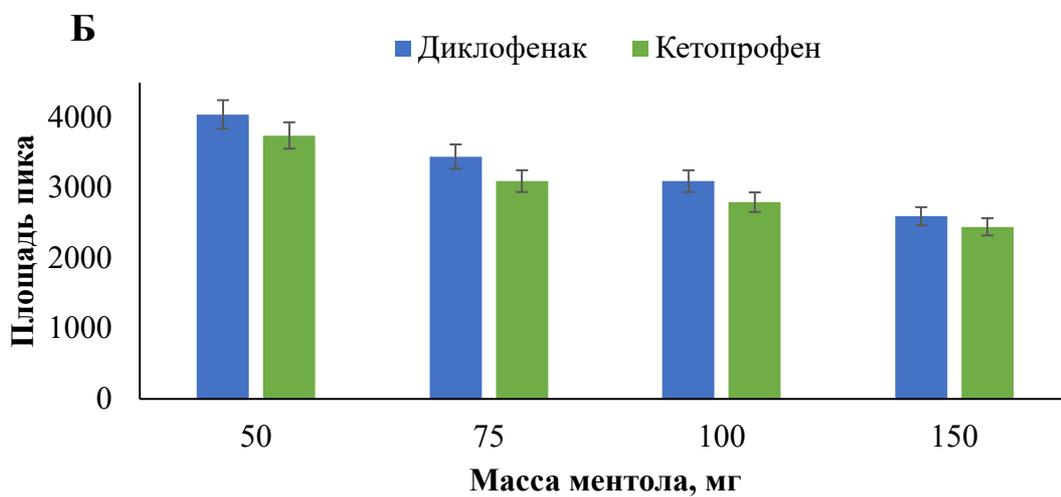
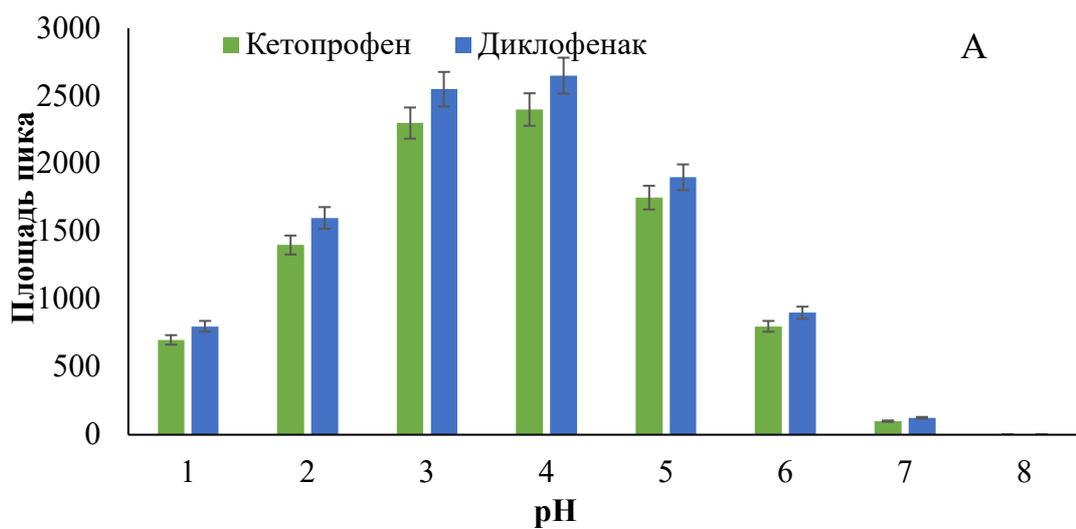


Рисунок 58 – ИК-спектры ментола, диклофенака и эвтектической смеси на их основе

Для получения оптимальных аналитических характеристик предлагаемого способа было изучено влияния различных параметров микроэкстракции на процесс извлечения аналитов. Обычно НПВВ в фармацевтических препаратах представлены в виде водорастворимых натриевых солей или их водонерастворимых молекулярных форм. В водном растворе в нейтральных и щелочных условиях НПВВ находятся в форме солей, но переходят в нерастворимые молекулярные формы в кислой среде. рН реального объекта (мочи) может зависеть от многих факторов и это может значительно повлиять на образование ЭР. Необходимо было выбрать оптимальное значение рН для проведения процедуры экстракции. Для этого рН водного раствора аналитов варьировался от 1 до 8 за счет добавления 1 моль/л HCl или 1 моль/л NaOH. К 5 мл данного раствора (концентрация аналитов 15 мг/л) добавляли 100 мг ментола, смесь нагревали до плавления ментола и перемешивали в течение 10 мин. После отделения фазы ментола кристаллизацией и ее разбавления в метаноле при ее анализе было обнаружено (Рисунок 59), что при рН 3-4 площади хроматографических пиков аналитов в фазе экстрагента были максимальными для всех аналитов. Этот факт можно объяснить нахождением аналитов при данном рН в молекулярной форме, что приводит к более полному образованию фазы ЭР. При

pH ниже 3 аналиты протонировались как амфолиты и степень извлечения снижалась. В щелочной среде НПВВ существовали в депротонированных формах и образование ЭР не наблюдалось. Для дальнейших исследований к образцам мочи добавляли 2 мл ацетатного буферного раствора (0,2 моль/л ацетата натрия и 0,2 моль/л уксусной кислоты (1:9)) с pH 3,8.

Количество ментола как экстрагента влияет как на соотношение компонентов для образования ЭР, так и на объем финальной фазы экстрагента. Поэтому было изучено влияние массы ментола на аналитический сигнал, в качестве которого использовали площади хроматографических пиков аналитов в экстракте. Различное количество ментола от 50 до 150 мг добавляли к раствору аналитов (pH 3,8), нагретому до 50 °С. Пробу и ментол перемешивали в течение 10 мин и охлаждали в течение 15 мин при 5 °С. Было установлено, что количество ментола выше 50 мг приводит к эффекту разбавления аналитов. При использовании массы ментола менее 50 мг становилось невозможно воспроизводимо отобрать его фазу после процесса экстракции (Рисунок 59). Было также изучено влияние температуры пробы на процесс экстракции. Температура варьировалась от 30 до 50 °С. Было показано, что при температуре пробы 40 °С достигаются наивысшие значения аналитического сигнала. При температуре ниже 40 °С ментол не полностью плавился и степень извлечения снижалась. При более высоких температурах ментол начинал быстро испаряться, что приводило к низкой воспроизводимости. Время экстракции также было изучено и оптимизировано. Было показано, что при температуре 40 °С степень извлечения на уровне 95% для обоих аналитов достигалась за 1 мин (Рисунок 59). Ментол кристаллизуется уже при комнатной температуре, однако для удобства проведения процесса кристаллизации пробу помещали в холодильную камеру при температуре 5 °С. Время кристаллизации также было оптимизировано. Было показано, что оптимальное время кристаллизации (при 5 °С) составляет 5 мин. Дальнейшее увеличение времени не влияет на изменение аналитического сигнала (Рисунок 59).



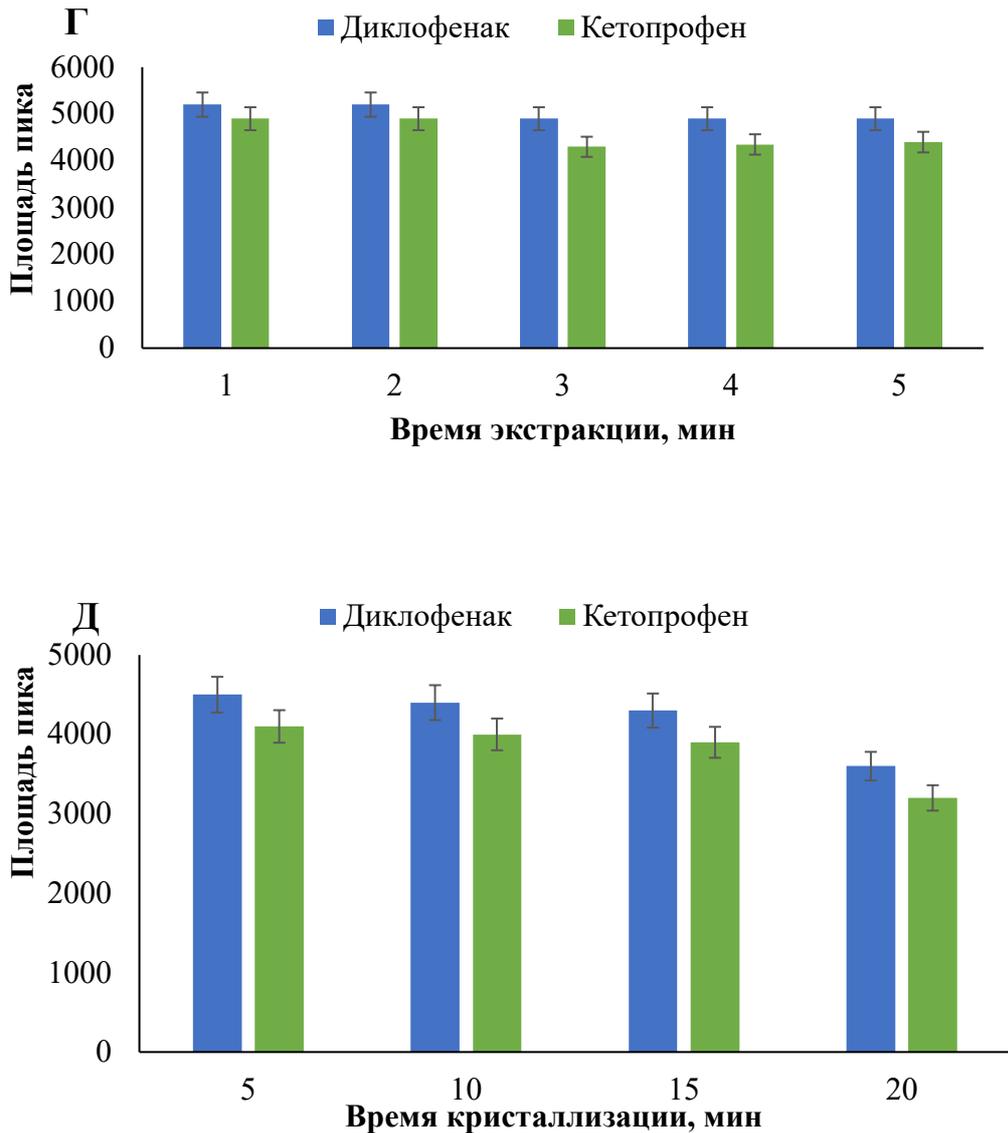


Рисунок 59 – Оптимизация процесса микроэкстракции НПВВ (n=3): (А) Влияние рН на площадь хроматографического пика аналитов НПВВ (концентрация НПВВ 15 мг/л, масса ментола 100 мг, время экстракции 5 мин, время затвердевания 10 мин, температура экстракции 40 °С), (Б) Влияние массы ментола на экстракцию НПВВ (условия экстракции: концентрация НПВВ 15 мг/л, рН = 3,8, время экстракции 5 мин, время затвердевания 10 мин, температура экстракции 40 °С); (В) Влияние температуры и времени на экстракцию НПВВ (условия экстракции: концентрация НПВВ 15 мг/л, масса ментола 50 мг, рН = 3,8, время экстракции 5 мин, время затвердевания 10 мин); (Г) Влияние времени экстракции на извлечение НПВВ (условия экстракции: концентрация НПВВ 15 мг/л, масса ментола 50 мг, рН = 3,8, время затвердевания 10 мин, температура экстракции 38 °С); (Д). Влияние времени затвердевания на извлечение НПВВ (условия экстракции: концентрация НПВВ 15 мг/л, масса ментола 50 мг, рН = 3,8, время экстракции 1 мин, температура экстракции 38 °С)

Для демонстрации применимости предложенной процедуры для анализа реальных объектов было изучено мешающее влияние различных соединений (основные органические компоненты мочи и некоторые широко используемые антибиотики). Для этого потенциальные мешающие компоненты добавляли в концентрациях, присутствующих в реальных объектах. Были изучены такие компоненты как мочевины, глюкоза, креатинин, мочевины и гиппуровая кислоты, а также такие лекарственные вещества, как тетрациклины (тетрациклин, окситетрациклин и доксициклин) и фторхинолоны (флероксацин, норфлоксацин и офлоксацин). Результаты показали, что изученные соединения не влияли на положение и площади хроматографических пиков аналитов. С этой точки зрения предложенная процедура может рассматриваться как селективный подход для определения НПВВ в образцах мочи.

Результаты валидации разработанного способа представлены в Таблице 22. Градуировочные зависимости были построены с использованием Государственного стандартного образца (ГСО) аналитов (ГСО 11784-2021 и ГСО 11782-2021). Растворы для градуировки проводили через все стадии пробоподготовки. ДОК составили от 0,2 до 100 мг/л для диклофенака и от 0,45 до 75 мг/л для кетопрофена с коэффициентами линейной корреляции 0,995 и 0,996 соответственно. ПО и ПКО рассчитывались как три и десять стандартных отклонений от измерения холостой пробы ($n = 10$) соответственно. Значения ПО составляли 0,15 мг/л и 0,06 мг/л для кетопрофена и диклофенака соответственно. Значения ПКО составляли 0,45 мг/л и 0,2 мг/л для кетопрофена и диклофенака соответственно. Степень извлечения составила 93-97 %, коэффициенты концентрирования – 27-31. Для оценки прецизионности рассчитывали ОСКО. Значения ОСКО в условиях повторяемости и внутрилабораторной воспроизводимости составили 2,5-3,6 и 4-5 % соответственно. Полученные результаты были опубликованы в работе [278].

Таблица 22 – Аналитические характеристики разработанного способа определения НПВВ в моче

Параметр	Диклофенак	Кетопрофен
Диапазон определяемых концентраций, мг/л	0,2-100	0,45-75
R^2	0,995	0,996
Предел обнаружения (3σ), мг/л	0,06	0,15
Предел определения (10σ), мг/л	0,2	0,45
Степень извлечения, %	93	97
Коэффициент концентрирования	27	31
Повторяемость (ОСКО, $n=3$), % ($C = 50$ мг/л)	2,5	3,6
Внутрилабораторная воспроизводимость (ОСКО, $n=3$), % ($C = 50$ мг/л)	5	5

Разработанный способ был использован для оценки содержания аналитов в пробах мочи, собранных у 3 добровольцев (Таблица 23). Правильность результатов подтверждали методом «введено-найдено» и их сравнением с результатами, полученными независимым способом. Для анализа проб в соответствии с независимым способом к 5 мл образца ($pH = 3$) добавляли 1 мл CCl_4 (экстрагент) и смесь перемешивали в течение 1 мин. После центрифугирования в течение 5 мин. органическую фазу (500 мкл) переносили в пробирку и выпаривали до сухого остатка. Затем к остатку добавляли 200 мкл подвижной фазы и 50 мкл смеси вводили в систему ВЭЖХ-УФ.

В Таблице 24 показаны аналитические характеристики предложенного способа и других способов, для определения НПВВ в биологических пробах, представленных литературе. ПО и линейный диапазон предложенного способа

сопоставимы с альтернативными способами. Однако, в отличие от ранее предложенных способов, разработанный подход включает простую процедуру пробоподготовки, которая не требует использования токсичных органических растворителей или дорогостоящих сорбентов. Также предложенная процедура достаточно экспрессная, что делает предложенный подход приемлемым для проведения массовых клинических анализов.

Таблица 23 – Результаты определения содержания НПВВ в образцах мочи (n = 4, P = 0,95; Fk = 9,28; tk = 3,18)

Образец мочи	НПВВ	Концентрация НПВВ, мг/л			Относительное смещение, %	t-тест	F-тест
		Введено	Найдено, разработанный способ	Найдено, независимый способ			
Образец 1	Кетопрофен	0,5	0,55 ± 0,04	0,51 ± 0,13	10	2,2	6,6
		2	2,07 ± 0,13	2,15 ± 0,3	3	2,6	4,4
		5	4,5 ± 0,3	4,9 ± 0,8	10	2,5	5,5
	Диклофенак	0,2	0,19 ± 0,07	0,17 ± 0,06	5	1,3	1,1
		2	1,82 ± 0,05	2,3 ± 0,2	9	2,1	8,4
		5	4,6 ± 0,5	4,7 ± 0,4	8	1,8	3,6
Образец 2	Кетопрофен	0,2	0,21 ± 0,02	0,19 ± 0,04	5	1,3	6,6
		1	0,92 ± 0,05	1,19 ± 0,13	8	1,9	5,3
		5	4,7 ± 0,4	5,1 ± 0,9	6	2,2	4,6
	Диклофенак	0,2	0,18 ± 0,02	0,19 ± 0,03	10	0,6	1,4
		1	0,96 ± 0,08	1,15 ± 0,17	4	1,1	5,1
		5	5,2 ± 0,3	5,5 ± 0,7	4	0,7	4,2
Образец 3	Кетопрофен	0,5	0,52 ± 0,5	0,64 ± 0,1	4	1,3	3,4
		2	1,98 ± 0,14	1,65 ± 0,02	1	1,8	5,9
		5	4,9 ± 0,3	4,6 ± 0,6	2	2,7	5,5
	Диклофенак	0,5	0,46 ± 0,04	0,44 ± 0,07	8	0,8	5,6
		2	2,12 ± 0,15	2,3 ± 0,3	6	1,8	4,6
		5	5,1 ± 0,3	5,5 ± 0,7	2	2,9	4,3

Таблица 24 – Сравнение предложенного способа с предложенными в литературе для определения нестероидных противовоспалительных препаратов в биологических образцах

Метод анализа	Образец	Аналит(ы)	Метод пробоподготовки	Экстрагент /сорбент	Время подготовки образца, мин	ПО, мг/л	СКО, %	Коэффициент концентрирования	Степень извлечения, %	Объём пробы, мл	Ссылка
ВЭЖХ-УФ	Вода и моча	Кетопрофен, напроксен, диклофенак, ибупрофен	ТФМЭ	Молекулярно импринтированный полимер	–	0,3–0,4	<20	–	89–114	1–50	[279]
ГХ-ПИД	Моча	Напроксен, диклофенак, ибупрофен	ТФМЭ	Полиэтиленгликоль, привитый на многостенные углеродные нанотрубки (PEG-g-MWCNTs)	80	30–50	5,2–7,5	–	80,2–98,5	3	[280]
ВЭЖХ-УФ	Моча	Диклофенак, мефенамовая кислота, кетопрофен	ДЖМЭ	1-ундеканол	20	0,0034–0,0052	0,8–1,1	–	95,7–115,6	5	[281]
ВЭЖХ-УФ	Плазма крови человека	Кетопрофен, напроксен, фенпрофен, флубипрофен, натриевая соль диклофенака, ибупрофен	ЖМЭ	Этилацетат	30	11,5–75,0	2,5–8,4	–	97,1–114,6	0,1	[282]
ВЭЖХ-УФ	Озерная вода и плазма крови	Кетопрофен, флубипрофен, натриевая соль диклофенака	ТФМЭ	Холин хлорид, итаконовая кислота, ПЭЭК/поли(ЭР-ДМЭГ) монолитная колонка	17	10–50	<4,32	98–103	84,5–105,5	2	[283]

Продолжение таблицы

Метод анализа	Образец	Аналит(ы)	Метод пробоподготовки	Экстрагент / сорбент	Время подготовки образца, мин	ПО, мг/л	СКО, %	Коэффициент концентрирования	Степень извлечения, %	Объём пробы, мл	Ссылка
Ультра-ВЭЖХ-МС/МС	Плазма крови, фармацевтические препараты	Кофеин, индопрофен, кетопрофен, напроксен, фенбуфен, ибупрофен	Ультразвуковая ЖМЭ	1-октанол	15	–	<4,81	–	90,7–104	2	[284]
ВЭЖХ-УФ	Моча	Ципрофлоксацин, офлоксацин, диклофенак, мифенамовая кислота	–	–	–	0,9–4,3	<1	–	97,5–102,8	0,2	[285]
Вольтамперометрия	Фармацевтические препараты, моча	Мезалазин	–	Алмазный электрод, легированный бором	–	0,11	45388,00	–	93,4–110	1	[286]
ВЭЖХ-УФ	Моча, слюна, озерная и речная вода	Салициловая кислота, кетопрофен, напроксен, диклофенак, ибупрофен	ЖМЭ	Дигексиловый эфир	25	0,07–0,3	<2	75 (Ибупрофен)	–	0,005–0,5	[287]
ВЭЖХ-УФ	Моча	Кетопрофен, диклофенак	ЖМЭ, основанная на образовании ЭР	Ментол	10	0,015–0,044	<5	27–31	93–97	8	Эта работа

Таким образом, в данной работе впервые был предложен новый подход к микроэкстракции нестероидных противовоспалительных препаратов из биологических жидкостей на основе *in situ* образования эвтектических растворителей. Разработанный подход исключает этап предварительного синтеза ЭР и их использования в качестве экстрагентов. В отличие от ранее предложенных процедур, *in situ* образование ЭР происходит непосредственно в водной фазе образца. Установлено, что ментол обеспечивает селективное извлечение аналитов из матрицы мочи. Предложенная процедура была успешно совмещена с системой ВЭЖХ-УФ и применена для определения кетопрофена и диклофенака в реальных образцах мочи. Предложенный подход может рассматриваться как экологически безопасный, быстрый, простой, дешевый и удобный и имеет возможность быть совмещенным с другими инструментальными методами (газовая хроматография, масс-спектрометрия и т.д.). Кроме того, он может быть использован для экстракции других веществ, способных образовывать эвтектические растворители при правильном подборе экстрагента.

Ограничением данного способа является необходимость использования твердого ментола, что затрудняет ее масштабирование и автоматизацию, а также позволяет работать только с жидкими пробами. Таким образом, актуальным является модификация подобной процедуры для расширения ее аналитических возможностей. Для этого был предложен двухстадийный способ жидкостной микроэкстракции на основе *in situ* образования ЭР между аналитами (НПВВ) и ментолом после извлечения аналитов из твердофазной пробы.

Согласно разработанной схеме (Рисунок 60), гомогенизированный образец твердого пищевого продукта (печени) помещали в стеклянный флакон и к пробе добавляли водный раствора карбоната натрия. Затем флакон помещали в ультразвуковую ванну (325 Вт, 35 кГц) для извлечения аналитов из твердого образца печени в раствор карбоната натрия за счет их ионизации

в щелочном растворе и переводе аналитов в водорастворимые формы. После этого суспензию образца центрифугировали и супернатант переносили в новый флакон, содержащий ЭР, состоящий из муравьиной кислоты и ментола. Это приводило к интенсивному образованию углекислого газа из-за разрушения ЭР за счет реакции карбоната натрия и кислоты, и образованию фазы ментола, в которую экстрагировались аналиты. После разделения фаз флакон помещали в холодильную камеру для кристаллизации ментола. Твердую фазу ментола прокалывали иглой шприца и водную фазу удаляли. Затем фазу ментола растворяли в 100 мкл метанола, полученный раствор фильтровали одноразовым шприцевым фильтром и анализировали методом ВЭЖХ-МС/МС.

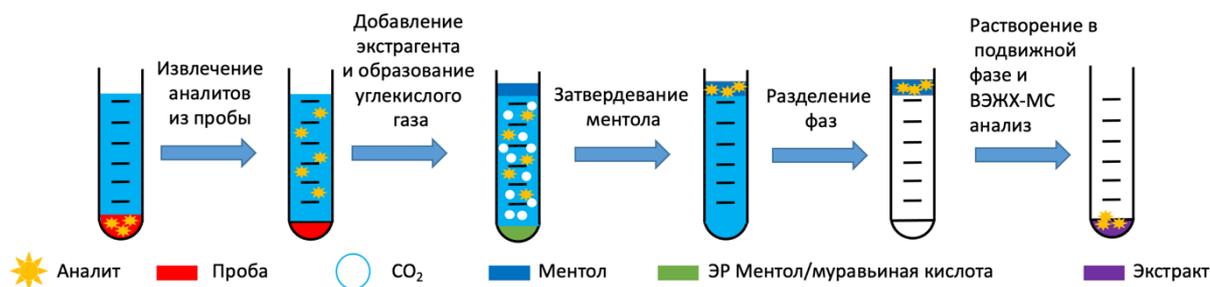


Рисунок 60 – Схема двухстадийной микроэкстракции НПВВ из твердофазных пробы с *in situ* образованием ЭР с ментолом

Обычно неполярные органические растворители используются для извлечения неполярных протонированных форм нестероидных противовоспалительных препаратов из водного раствора. Однако натриевые соли кетопрофена и диклофенака растворимы в воде. Таким образом, становится возможным извлечение кетопрофена и диклофенака из твердофазного образца пищевого продукта раствором карбоната натрия. Ионизация аналитов (образование натриевых солей) в присутствии карбоната натрия способствует их массопереносу из твердой фазы образца в щелочную водную фазу.

Так как полученный водный раствор может содержать высокую концентрацию мешающих компонентов и карбоната натрия и не может быть напрямую использован для введения в систему ВЭЖХ-МС, требовалась дополнительная стадия выделения аналитов, которая также позволила существенно понизить пределы обнаружения за счет концентрирования аналитов. Для этого была предложена процедура микроэкстракции аналитов из водного щелочного раствора с использованием эвтектической смеси ментола и муравьиной кислоты. Ментол в данном случае выступал в качестве экстрагента для *in situ* образования ЭР между терпеноидом и аналитами. Карбонат натрия выполнял двойную функцию. Во-первых, карбонат натрия обеспечивал эффективное извлечение аналитов из твердофазной пробы. Во-вторых, он выступал в качестве источника CO_2 для при реализации второго этапа микроэкстракции при реакции с муравьиной кислотой. Для изготовления квазигидрофобного ЭР были выбраны гидрофильные (муравьиная кислота) и гидрофобные (ментол) прекурсоры. ЭР, состоящий из ментола и муравьиной кислоты, смешивали с раствором натриевых солей кетопрофена и диклофенака, и растворение муравьиной кислоты в водной фазе вызывало разрушение ЭР и образование фазы ментола, в которую извлекались аналиты за счет образования нового ЭР. Реакция между муравьиной кислотой и карбонатом вызывала интенсивное образование углекислого газа, что способствовало диспергированию ментола и интенсификации процессов экстракции. Важно отметить, что ЭР, состоящий из ментола и кислоты, находился в жидкой фазе и предварительный этап плавления ментола (при 40 °С) не требовался для экстракции, что позволяло как сократить время анализа, так и упростить процедура за счет отказа от работы с твердым ментолом. Кроме образования углекислого газа, избыток муравьиной кислоты и полученный формиат натрия образовывали буферный раствор с рН 4, что обеспечивало оптимальные условия для экстракции аналитов в фазу ментола.

Для характеристики ЭР из ментола и муравьиной кислоты были получены ИК-Фурье-спектры ментола, муравьиной кислоты и полученного ЭР (Рисунок 61). В ИК-Фурье спектре ментола и муравьиной кислоты наблюдаются колебания -ОН связей при 3240 см^{-1} и 3502 см^{-1} соответственно, а для ЭР характерный пик -ОН колебаний уширяются и его максимум смещается до значения 3445 см^{-1} за счет образования новых межмолекулярных водородных связей между ментолом и муравьиной кислотой.

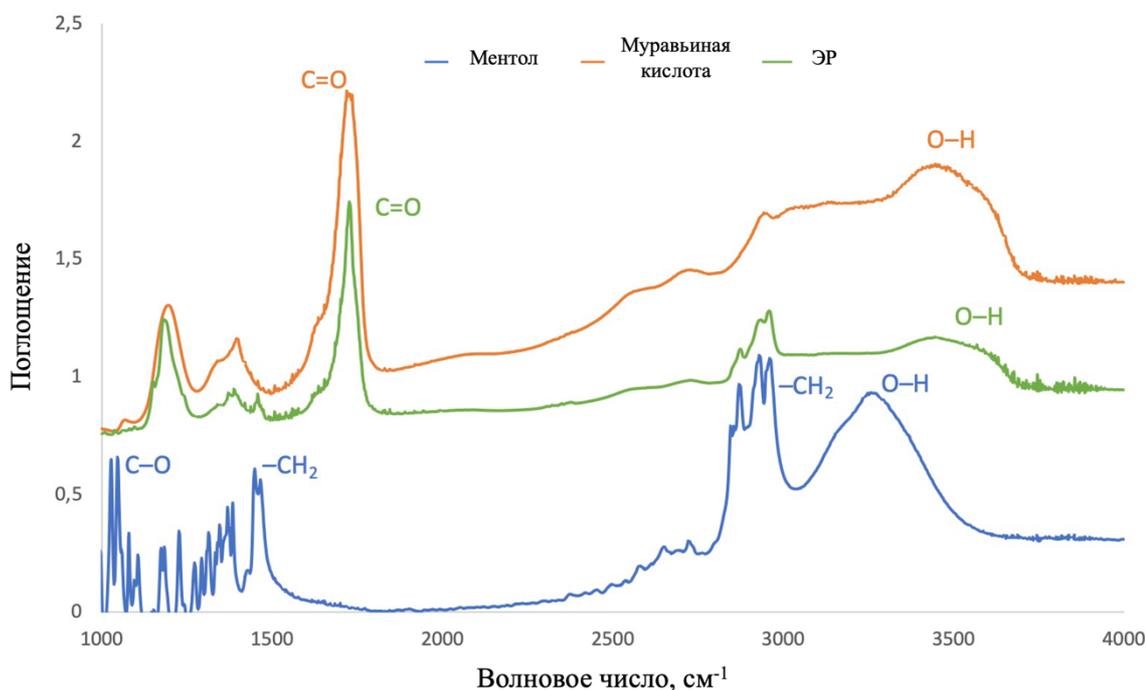


Рисунок 61 – ИК-спектры ментола, муравьиной кислоты и ЭР на их основе

Так как раствор карбонат натрия выступает и в качестве экстрагента для извлечения аналитов на первом этапе и для образования CO_2 и буферного раствора на втором этапе, особое внимание было уделено изучению влияния его концентрации на процесс экстракции. Для выбора оптимальной концентрации соли для первого процесса 500 мг образца печени, содержащего аналиты (500 мкг/кг), смешивали с 5 мл раствора карбоната натрия с концентрацией от 0,25 до 2 моль/л. Суспензию образца помещали в ультразвуковую ванну (325 Вт, 35 кГц, $60\text{ }^\circ\text{C}$, 30 мин). После

центрифугирования (5 мин, 6000 об/мин) раствор нейтрализовали (рН 7) путем добавления раствора соляной кислоты (6 моль/л) и анализировали методом ВЭЖХ-МС/МС. Как видно из Рисунка 62, концентрация карбоната натрия 0,5 моль/л обеспечивала наибольшие площади пиков при минимальной концентрации реагента для обоих аналитов. Для выбора оптимальной концентрации соли для реализации второй процедуры жидкостной микроэкстракции готовили водные раствор аналитов, используя растворы карбоната натрия с концентрацией от 0,25 до 2 моль/л. После этого 5 мл раствора смешивали с ЭР (1,5 г муравьиной кислоты и 0,2 г ментола). После отделения фазы ментола и его разбавления проводили ВЭЖХ-МС/МС анализ полученного экстракта. Наибольшие значения аналитического сигнала и наименьшие значения СКО были достигнуты при концентрации карбоната натрия 1,0 моль/л (Рисунок 62). При более высокой концентрации карбоната натрия более интенсивный процесс образования углекислого газа ускорял диспергирование фазы ментола, и воспроизводимость значительно снижалась. Таким образом, для извлечения аналитов из образцов печени с последующей микроэкстракцией был выбран раствор карбоната натрия с концентрацией 1,0 моль/л.

Обычно повышение температуры увеличивает диффузию аналитов из твердофазных образцов в фазу экстрагента и позволяет повысить степень извлечения. Поэтому было изучено влияние температуры и времени экстракции на извлечение кетопрофена и диклофенака из образцов печени. Температура в ультразвуковой ванне (325 Вт, 35 кГц) варьировалась от 30 до 60 °С, а время – от 5 до 30 мин. Было установлено, что 20 мин при 50 °С достаточно для количественного извлечения обоих аналитов (Рисунок 62).

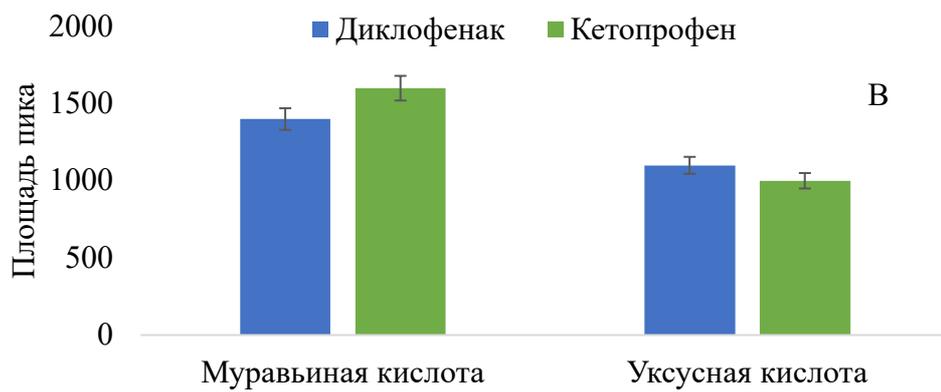
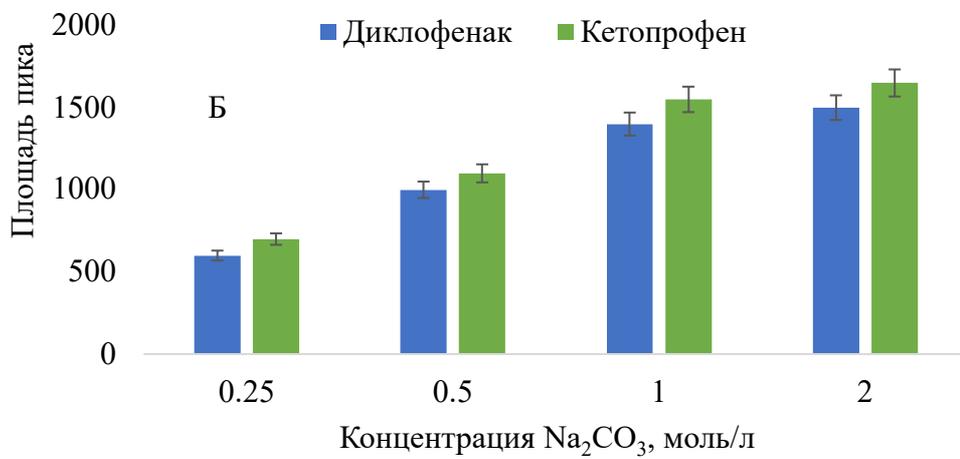
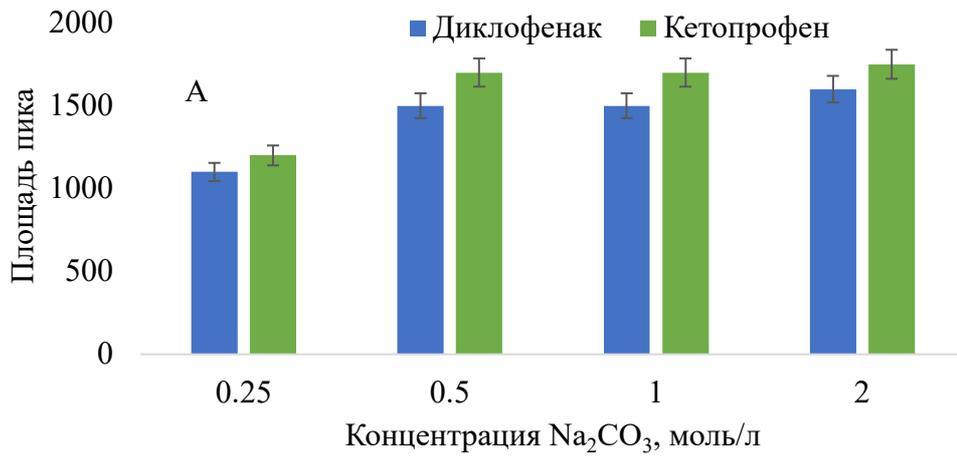
Кислота в составе ЭР служит для перевода ментола в жидкую форму, для генерирования CO_2 , а также для создания оптимального рН на стадии микроэкстракции аналитов. В работе рассматривались две кислоты (уксусная и муравьиная) в качестве донора водородной связи в составе ЭР. Для выбора оптимальной кислоты смешивали 5 мл раствора аналитов в 1 моль/л растворе

карбоната с ЭР на основе ментола и двух разных кислот (0,2 г ментола и 1,15 г (0,025 моль) муравьиной кислоты/0,2 г ментола и 1,5 г (0,025 моль) уксусной кислоты). Муравьиная кислота обеспечивала большую степень извлечения аналитов (Рисунок 62), так как ее присутствие приводило к более эффективному процессу образования CO_2 , что приводило к более эффективному процессу микроэкстракции аналитов.

Масса ментола как экстрагента должна быть достаточной для эффективной экстракции кетопрофена и диклофенака, однако слишком большое значение массы ментола приведет к разбавлению фазы экстракта. Масса ментола варьировалась в диапазоне от 50 до 200 мг. Было показано (Рисунок 62), что использование массы менее 100 мг приводило к значительному увеличению стандартного отклонения из-за невоспроизводимого смешивания небольшого объема фазы ментола и фазы образца. При большей массе ментола наблюдался эффект разбавления. Таким образом, 100 мг были выбраны в качестве оптимальной массы.

На финальном этапе было изучено влияние времени на процесс кристаллизации ментола для отделения его от фазы пробы. Для кристаллизации ментола пробу помещали в холодильную камеру при $5\text{ }^\circ\text{C}$, и время кристаллизации варьировалось от 1 до 10 мин. Было установлено, что 5 мин достаточно для полного затвердевания фазы ментола.

Так как анализ реальных объектов сопряжен с потенциальным мешающим влиянием различных компонентов матрицы, было изучено влияние таких соединений, как рибофлавин (витамин В2), никотиновая кислота (витамин В3), фолиевая кислота (витамин В9) и цианокобаламин (витамин В12). Эти витамины могут присутствовать в значительных концентрациях в говяжьей печени. Было установлено, что только фолиевая кислота извлекается в фазу ментола. Однако ВЭЖХ-МС/МС обеспечивал селективное определение кетопрофена и диклофенака в полученных экстрактах.



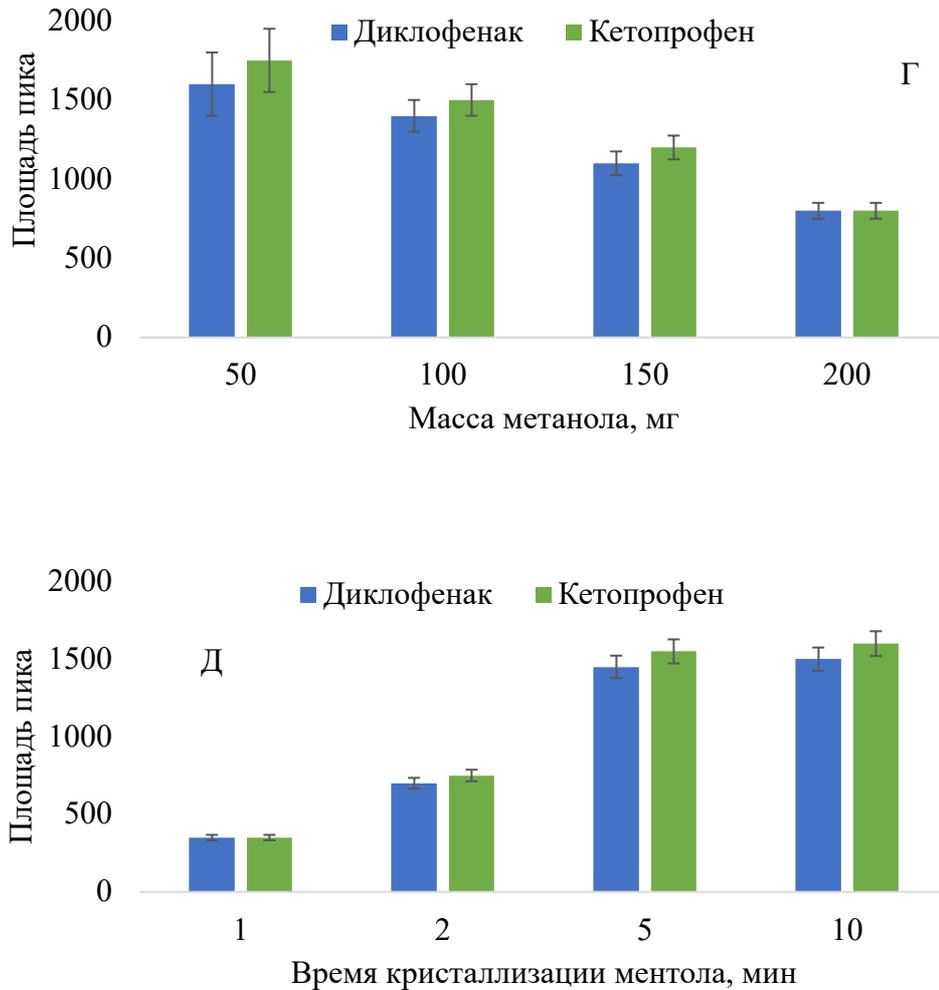


Рисунок 62 – Оптимизация процесса микроэкстракции НПВВ (n=3):

(А) Влияние концентрации карбоната натрия на площадь хроматографических пиков аналитов при оптимизации процесса извлечения аналитов из твердофазной пробы (концентрация НПВВ 500 мкг/кг), (Б) Влияние концентрации карбоната натрия на площадь хроматографических пиков аналитов при оптимизации процесса жидкостной экстракции аналитов из водного раствора (концентрация НПВВ 50 мкг/л), (В) Влияние типа кислоты в составе ЭР на площадь хроматографических пиков аналитов при оптимизации процесса жидкостной экстракции аналитов из водного раствора (концентрация НПВВ 50 мкг/л), (Г) Влияние массы ментола в составе ЭР на площадь хроматографических пиков аналитов при оптимизации процесса жидкостной экстракции аналитов из водного раствора (концентрация НПВВ 50 мкг/л), (Д) Влияние времени кристаллизации ментола на площадь хроматографических пиков аналитов при оптимизации процесса жидкостной экстракции аналитов из водного раствора (концентрация НПВВ 50 мкг/л)

Результаты валидации разработанного способа представлены в Таблице 25. Градуировочные зависимости были построены с использованием ГСО аналитов (ГСО 11784-2021 и ГСО 11782-2021). Растворы для градуировки проводили через стадию жидкостной микроэкстракции аналитов. ДОК аналитов составили 0,3–500 мкг/кг для кетопрофена и 0,9–750 мкг/кг для диклофенака с коэффициентами корреляции 0,992 и 0,994 соответственно. ПО и ПКО рассчитывались как три и десять стандартных отклонений от измерения холостой пробы ($n = 10$) соответственно. Значения ПО составляли 0,1 и 0,3 мкг/кг для кетопрофена и диклофенака соответственно. Значения ПКО составляли 0,3 и 0,9 мкг/кг для кетопрофена и диклофенака соответственно. Степень извлечения составила 87-91 %, коэффициент концентрирования – 22-23. Для оценки прецизионности рассчитывали ОСКО. Значения ОСКО в условиях повторяемости и внутрилабораторной воспроизводимости составили 7-9 % и 8-10 % соответственно. Полученные результаты были опубликованы в работе [288].

Таблица 25 – Аналитические характеристики разработанного способа определения НПВВ в твердофазных мясных пищевых продуктах

Параметр	Кетопрофен	Диклофенак
Диапазон определяемых концентраций, мкг/кг	0,3-500	0,9-750
R^2	0,992	0,994
Предел обнаружения (3σ), мкг/кг	0,1	0,3
Предел определения (10σ), мкг/кг	0,3	0,9
Степень извлечения, %	87	91
Коэффициент концентрирования	22	23
Повторяемость (ОСКО, $n=3$), % ($C = 100$ мкг/кг)	7	9
Внутрилабораторная воспроизводимость (ОСКО, $n=3$), % ($C = 100$ мкг/кг)	8	10

Способ был использован для оценки содержания аналитов в пробах говяжий печени (Таблица 26). Правильность результатов подтверждали методом «введено-найдено» и их сравнением с результатами, выполненными независимым способом, который включал смешивание 1 г гомогенизированного образца печени с 5 мл водного раствора соляной кислоты (0,25 моль/л). Полученную смесь оставляли на 16 часов при комнатной температуре. Затем добавляли 500 мкл раствора фосфата натрия (0,3 моль/л) и смесь нейтрализовали до pH 7 путем постепенного добавления раствора гидроксида натрия (2 моль/л). Аналиты экстрагировали с использованием 4 мл этилацетата. Три последовательных экстракта собирали в полипропиленовый флакон и выпаривали досуха под струей азота при 50 °С. Остаток растворяли в 100 мкл метанола и раствор анализировали методом ВЭЖХ-МС/МС.

Как видно из таблицы 26, результаты анализа статистически не различаются с результатами, полученными с использованием независимой процедуры.

Таблица 26 – Результаты определения содержания кетопрофена и диклофенака в образцах печени (n = 3, P = 0,95; F_{кр} = 19; t_{кр} = 2,78)

Образец	НПВВ	Концентрация НПВВ, мкг/кг			Относительное смещение, %	t-критерий	F-критерий
		Введено	Разработанный способ	Независимый способ			
Образец 1	Кетопрофен	0	<ПО	<ПО			
		25	24 ± 1	25 ± 2	4	1,6	5,1
	Диклофенак	0	<ПО	<ПО			
		25	27 ± 2	23 ± 2	8	2,4	2,7
Образец 2	Кетопрофен	0	<ПО	<ПО			
		50	47 ± 3	52 ± 3	6	1,7	2,3
	Диклофенак	0	<ПО	<ПО			
		50	46 ± 3	51 ± 2	8	1,2	4,3
Образец 3	Кетопрофен	0	<ПО	<ПО			
		100	106 ± 5	105 ± 2	6	0,4	8,1
	Диклофенак	0	<ПО	<ПО			
		100	97 ± 2	101 ± 3	3	0,7	3,2

В настоящее время разработано несколько способов для определения нестероидных противовоспалительных препаратов в мышечной ткани животных с помощью ВЭЖХ-МС. Однако для выделения и концентрирования данных аналитов используются трудоемкие и длительные процедуры жидкостной и твердофазной экстракции. Например, в независимой процедуре подготовка проб занимала более 16 часов, и для экстракции требовалось 12 мл этилацетата [289]. Разработанный способ быстрее (30 мин) и позволяет сократить потребление реагентов за счет миниатюризации процедуры жидкостной экстракции.

Таким образом, было показано, что разрушение эвтектического растворителя на основе ментола и муравьиной кислоты может быть использовано для селективного извлечения НПВВ из твердофазных объектов. Добавление раствора, содержащего карбонат натрия к данному эвтектическому растворителю обеспечивает протекание сразу нескольких процессов: разложению эвтектического растворителя (1), протонированию аналитов (в присутствии избытка кислоты) для последующей экстракции (2), реакции образования углекислого газа, что интенсифицирует процесс экстракции без дополнительного перемешивающего оборудования (3), экстракции аналитов в фазу ментола (4), разделению фаз (5).

В данных примерах было описано *in situ* образование гидрофобного ЭР между ментолом и НПВВ, однако данные процессы могут протекать и для других аналитов при образовании гидрофильных ЭР, например, на основе холина хлорида. Известно, что холин хлорида образует устойчивые ЭР с фенолом и его производными (фенол, *o*-крезол, *p*-крезол, эвгенол, изоэвгенол и гваякол), которые часто могут входить в состав пищевых продуктов, особенно подвергнутых термической обработке или обработанных «жидким дымом» для имитации процесса копчения. Таким образом становится возможным выделение таких аналитов за счет образования ЭР между ними и хлоридом холина. Для более удобного процесса экстракции в данной работе был использован вариант микроэкстракции с модифицированными

мембранами, когда экстрагент удерживается в порах или на поверхности инертной мембраны.

Согласно предложенной процедуре (Рисунок 63), готовили модифицированную мембрану. Для этого мембраны из поливинилдендифторида нарезали на квадраты одинакового размера (10 мм × 10 мм), и нанизывали на иглу шприца. Для пропитывания мембраны 10 мкл раствора хлорида холина в воде наносили на мембрану с помощью дозатора и после пропитки мембрану сушили в сушильном шкафу в течение 5 мин при 100 °С. Образец твердофазного продукта помещали в стеклянный флакон, содержащий гексан. Иглу шприца с мембраной помещали во флакон так, чтобы она полностью была погружена в раствор гексана. Затем флакон закрывали полипропиленовой крышкой и помещали на шейкер для встряхивания образца. В это время аналиты извлекались в гексан из пробы и затем образовывали ЭР на поверхности мембраны. После этого мембрану извлекали и гексан испаряли с мембраны. Иглу шприца с мембраной помещали во флакон, содержащий воду для разрушения и растворения ЭР. Полученный водный раствор анализировали методом ВЭЖХ-ФЛД.

В данном случае наблюдалось образование ЭР между холином и производными фенола. Хлорид холина был выбран для мембранной микроэкстракции, так как эта четвертичная аммонийная соль образует стабильные ЭР с фенолами (действующими в качестве доноров водородной связи) в органической фазе. Кроме того, хлорид холина нерастворим в неполярных органических растворителях и растворим в воде, как и получаемые на его основе ЭР.

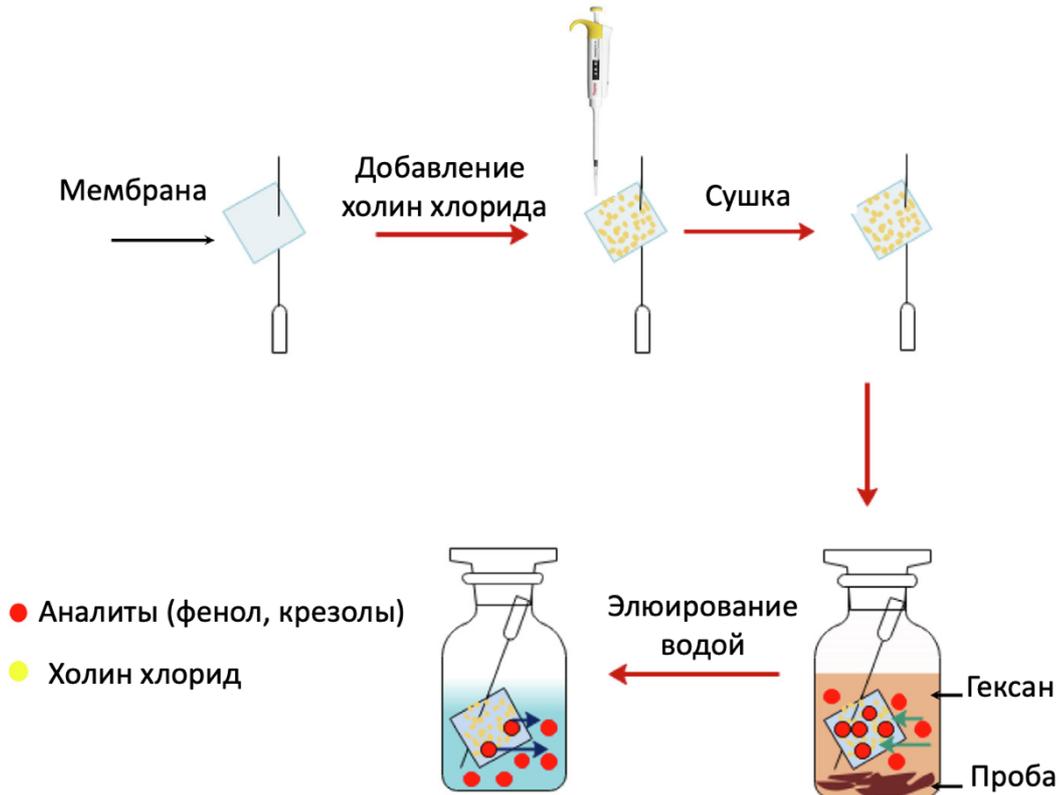


Рисунок 63 – Схема микроэкстракции фенолов из твердофазных проб с *in situ* образованием ЭР с хлоридом холина

При реализации данного вида микроэкстракции тип мембраны является ключевым параметром, который обеспечивает эффективное протекание процесса. С одной стороны, мембрана должна стабильно удерживать хлорид холина и полученный ЭР. С другой стороны, она должна обеспечивать обратимое элюирование ЭР в водную фазу. При этом она должна быть устойчива как в воде, так и в гексане. В работе были исследованы четыре коммерчески доступные мембраны: мембраны из ацетата целлюлозы, нейлоновые мембраны, мембраны из полиэфирсульфона и мембраны из поливинилиденфторида. Образец пробы (200 мг, 1000 мкг/кг фенолов) смешивали с 0,5 мл гексана в стеклянном флаконе объемом 10 мл. Мембраны (10 × 10 мм) пропитывали 10 мкл раствора хлорида холина (300 г/л) и сушили. Иглу шприца с пропитанной мембраной помещали в флакон и встряхивали в

течение 30 мин. После процесса экстракции мембрану помещали во флакон с 0,5 мл воды и встряхивали в течение 5 мин. Водный раствор анализировали методом ВЭЖХ-ФЛД. Как видно на Рисунке 64, среди изученных мембран мембрана из поливинилиденфторида обеспечивала максимальную степень извлечения аналитов. Предположительно, это связано со смешанной природой мембраны, которая обеспечивает как эффективное удерживание холина и ЭР на его основе, так и способствует диффузии аналитов в неполярном гексане к его поверхности.

Для оптимизации процедуры микроэкстракции были изучены различные способы пропитки мембраны. Были приготовлены и исследованы немодифицированная мембрана, мембрана, пропитанная водой, мембрана, пропитанная водным раствором хлорида холина, и мембрана с нанесенным твердым хлоридом холина. Было установлено, что пропитанная водой мембрана не обеспечивает эффективную экстракцию фенолов (степень извлечения <10%), поскольку энергия сольватации фенолов в фазе гексана превышает энергию гидратации (Рисунок 64). Низкую степень извлечения фенолов на не модифицированной мембране можно объяснить слабым взаимодействием поверхности мембраны с молекулами фенолов, а также более медленной кинетикой твердофазной экстракции. Те же данные, полученные для мембраны, пропитанной водным раствором хлорида холина, можно объяснить тем, что гидрофильные ЭР в водной фазе не образуются за счет диссоциации и гидратации хлорида холина. Максимальная степень извлечения была получена для мембраны, пропитанной твердым холином из-за образования ЭР на ее поверхности.

Чтобы подтвердить образование ЭР на поверхности мембраны, были получены ИК-спектры исходной мембраны, мембраны, пропитанной хлоридом холина, и мембраны после экстракции аналитов (Рисунок 65). После пропитки мембраны в ее ИК-спектрах наблюдаются полосы, характерные для холина (-ОН в диапазоне 3200–3400 см^{-1} , C-N+ при 950 см^{-1}). После экстракции фенолов наблюдались характерные пики групп фенола C-OH и ароматической

системы, а изменение пика поглощения связи -ОН происходило за счет образования водородной связи между фенолами и хлоридом холина, что подтверждает образование ЭР на поверхности мембраны.

Для извлечения фенолов из твердого пищевого образца требовался неполярный органический растворитель, который способствовал бы их массопереносу из твердой фазы образца в фазу хлорида холина, удерживаемую на мембране. Были исследованы несколько органических растворителей, таких как гексан, гептан и изооктан. Все исследованные растворители обеспечивали одинаковую степень извлечения. Гексан был выбран в качестве более летучего растворителя, что обеспечивало его быстрое испарение с поверхности мембраны после процедуры экстракции.

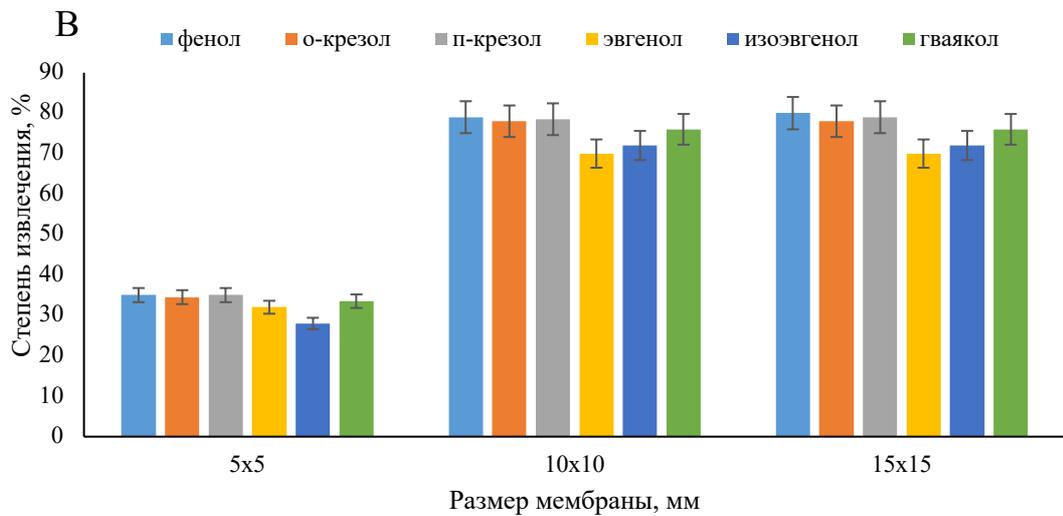
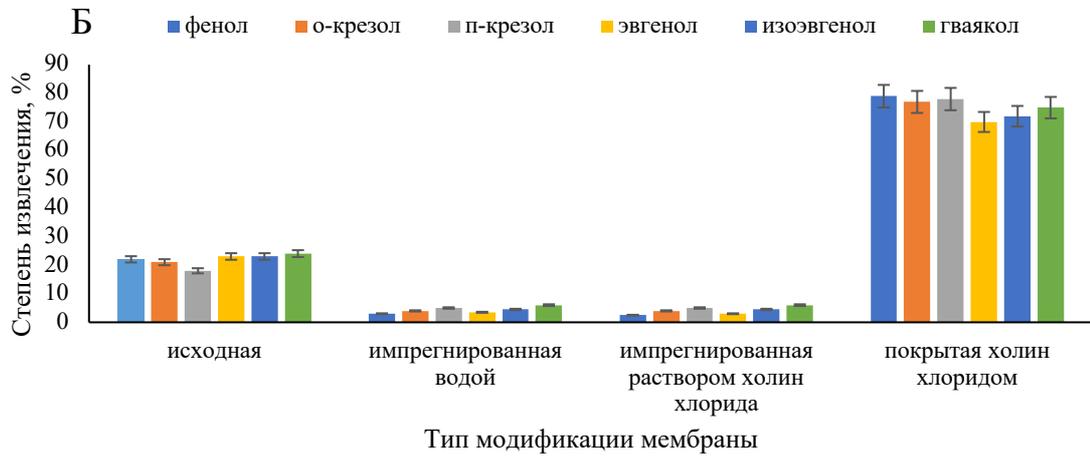
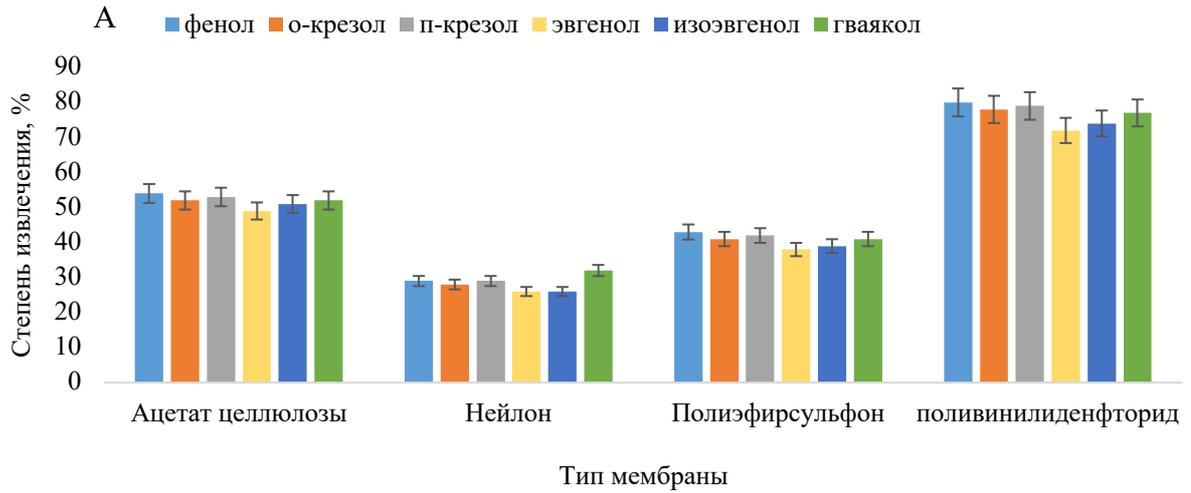
Объем гексана может оказывать двойное влияние на процесс экстракции. С одной стороны, гексан способствует массопереносу фенолов из твердой фазы образца в мембрану. С другой стороны, избыток гексана может снизить степень извлечения фенолов из-за высокой растворимости фенолов в его фазе. Были исследованы четыре различных объема гексана (0,5, 1,0, 1,5 и 2,0 мл). Максимальные значения степени извлечения были достигнуты при использовании 0,5 мл гексана, которые обеспечивали полное смачивание как пробы, так и мембраны.

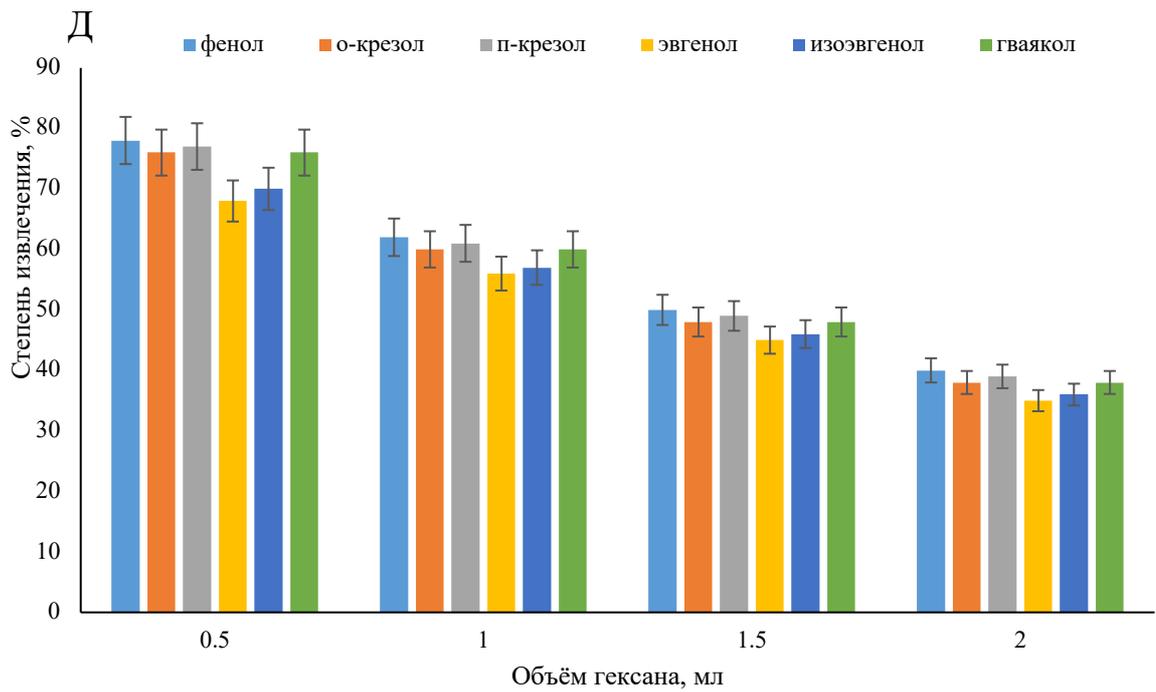
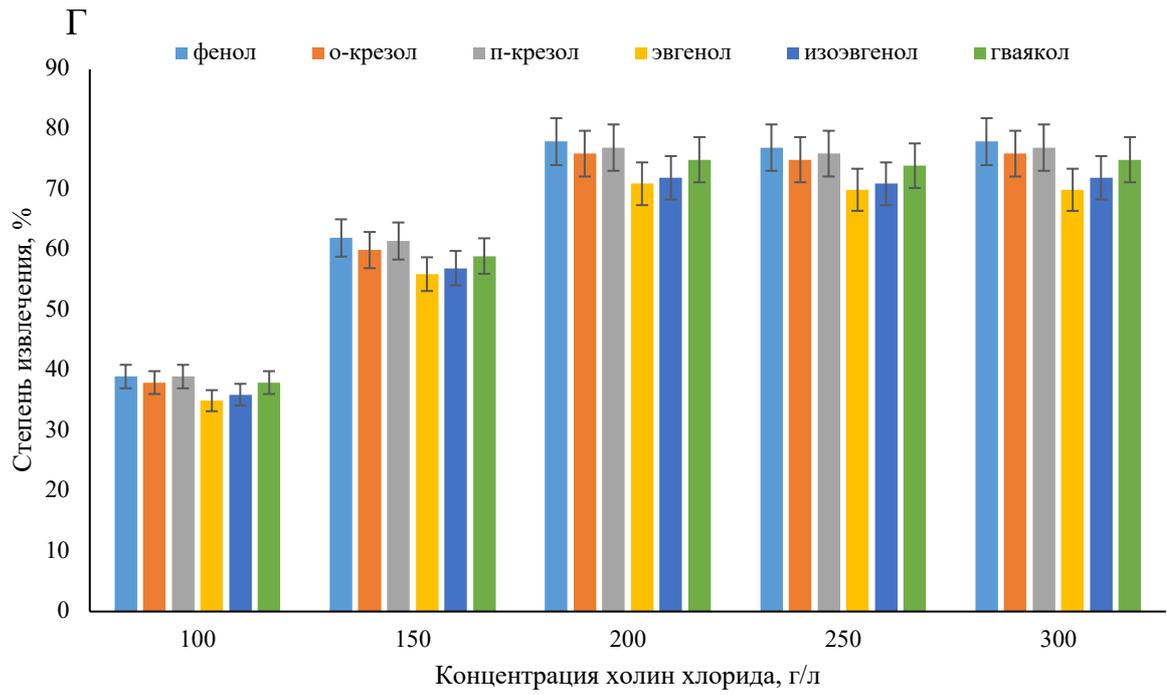
Для достижения максимальной эффективности микроэкстракции необходимо было изучить влияние размера мембраны на процесс экстракции. Большая площадь обеспечивала более быстрый процесс экстракции, однако требовала большего расхода гексана. Были исследованы три различных размера мембраны (5×5 , 10×10 и 15×15 мм). Все мембраны пропитывали 10 мкл раствора хлорида холина (300 г/л), сушили и использовали для микроэкстракции. Мембраны размером 10×10 мм обеспечивали сопоставимую степень извлечения с мембранами размером 15×15 мм, однако требовали меньшего объема гексана и элюента для растворения фазы ЭР после процесса экстракции (Рисунок 64).

В данном случае хлорид холина выступает в качестве экстрагента и в качестве акцептора для образования водородных связей с фенолами. Поэтому концентрация хлорида холина может влиять на эффективность данного процесса. Были исследованы различные концентрации хлорида холина (100, 150, 200, 250 и 300 г/л) в растворе, используемом для пропитки мембраны. Объем раствора хлорида холина во всех случаях составлял 10 мкл. С увеличением концентрации холина с 100 до 200 г/л наблюдалось увеличение степени извлечения аналитов. Дальнейшее увеличение концентрации холина не приводило к повышению степени извлечения аналитов.

Предложенная процедура мембранной микроэкстракции включает массоперенос аналитов из образца в органический растворитель и образование ЭР на мембране. Так как данная процедура включает несколько продолжительных этапов, было изучено влияние времени экстракции в диапазоне от 5 до 30 мин. Было обнаружено, что процесс экстракции существенно зависел от времени, и 15 мин было достаточно для достижения равновесия. Такое время экстракции обеспечивало извлечение всех аналитов на уровне более 70 %.

Элюирование аналитов было основано на растворении и разложении ЭР в водной фазе. Образование гидрофильного ЭР позволило использовать воду в качестве элюента, объем которой варьировали от 0,5 до 2 мл, а время элюирования варьировали от 1 до 10 мин. Было обнаружено, что 2 мин было достаточно для количественного элюирования аналитов при использовании 0,5 мл водной фазы (Рисунок 64).





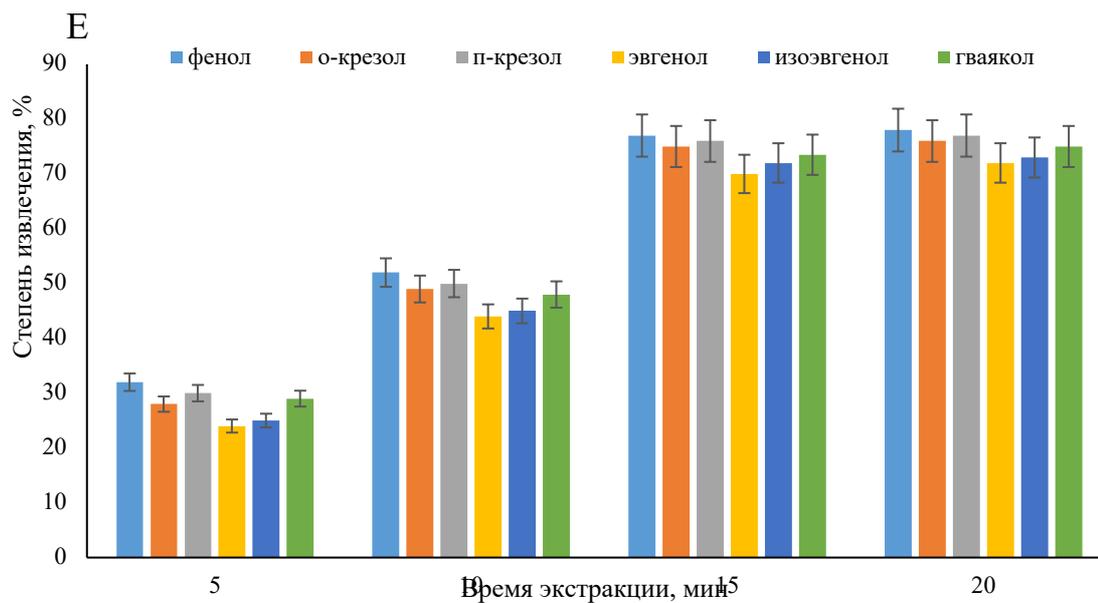


Рисунок 64 – Оптимизация процесса микроэкстракции фенолов ($n=3$, $C(\text{аналитов}) = 1$ мг/кг, масса пробы 200 мг): (А) Влияние типа мембраны (размер мембраны 10×10 мм; концентрация хлорида холина 300 г/л; объем гексана 0,5 мл; время экстракции 30 мин); (Б) Влияние метода пропитки мембраны (размер мембраны 10×10 мм; концентрация хлорида холина 300 г/л; объем гексана 0,5 мл; время экстракции 30 мин); (В) Влияние размера мембраны (концентрация хлорида холина 300 г/л; объем гексана 0,5 мл; время экстракции 30 мин); (Г) Влияние концентрации хлорида холина (размер мембраны 10×10 мм; объем гексана 0,5 мл; время экстракции 30 мин); (Д) Влияние объема гексана (размер мембраны 10×10 мм; концентрация хлорида холина 200 г/л; время экстракции 30 мин); (Е) Влияние времени экстракции (размер мембраны 10×10 мм; концентрация хлорида холина 200 г/л; объем гексана 0,5 мл)

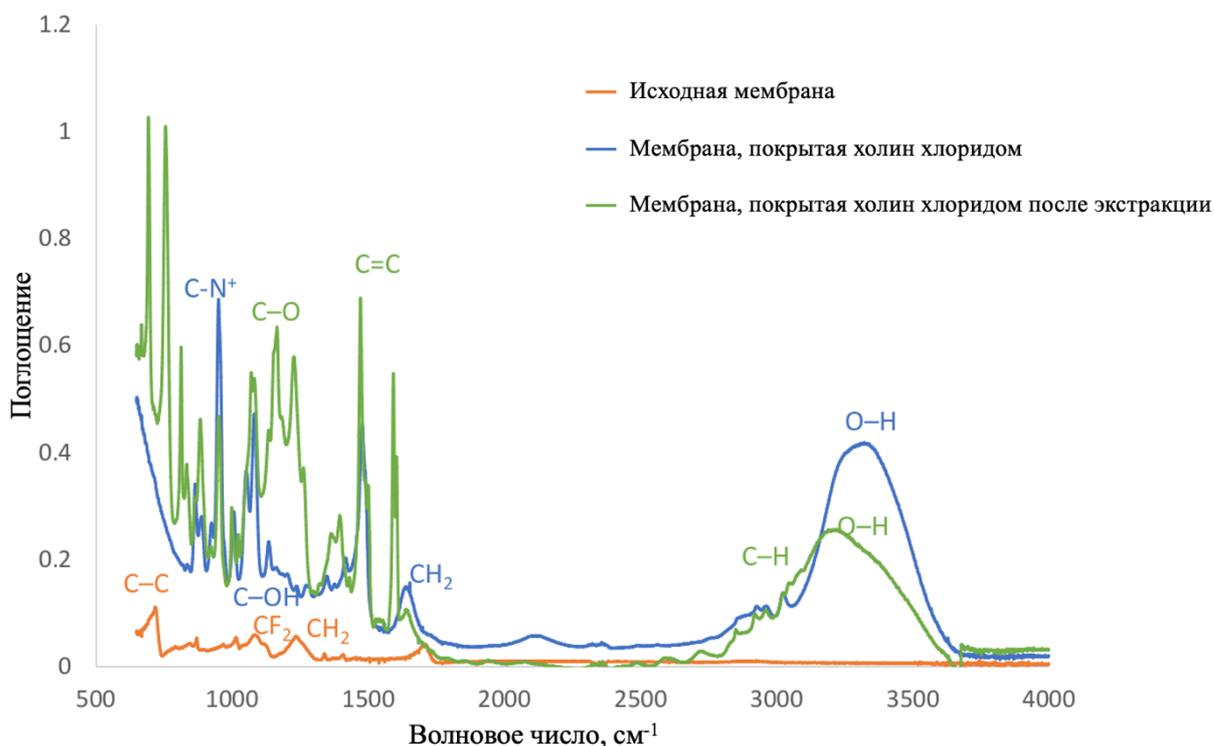


Рисунок 65 – ИК-спектры исходной мембраны; мембраны, покрытой хлоридом холина; мембраны, покрытой хлоридом холина после процесса экстракции аналитов

Результаты валидации разработанного способа представлены в Таблице 27. Градуировочная зависимость была построена с использованием СО состава раствора аналитов (ГСО 7270-96, СОП 0306-03, СОП 0307-03, СОП 0303-03). Фиксированные объемы раствора аналитов наносили на пробу пищевого продукта и данные пробы использовали для построения градуировочной зависимости с проведением всех стадий анализа. ДОК аналитов составил от 1 до 5000 мкг/кг для фенола, от 1 до 2000 мкг/кг для *o*-крезола, от 1 до 2000 мкг/кг для *n*-крезола, от 2 до 3000 мкг/кг для эвгенола, от 2 до 3000 мкг/кг для изоэвгенола и от 3 до 5000 мкг/кг для гваякола, с коэффициентами регрессии от 0,992 до 0,996. Пределы обнаружения (3σ) составляли 0,3 мкг/кг для фенола, *o*-крезола и *n*-крезола, 0,6 мкг/кг для эвгенола и изоэвгенола, и 1 мкг/кг для гваякола 0,5 мг/л соответственно. Пределы определения (10σ) составляли 1 мкг/кг для фенола, *o*-крезола и *n*-крезола, 2 мкг/кг для эвгенола и изоэвгенола, и 3 мкг/кг для гваякола.

Степень извлечения составила 70-80 %. Для оценки прецизионности рассчитывали ОСКО. Значения ОСКО в условиях повторяемости и внутрилабораторной воспроизводимости составили 4,5-5,6 и 6,2-8,4 % соответственно. Полученные результаты были опубликованы в работе [290].

Таблица 27 – Аналитические характеристики разработанного способа определения фенольных соединений в твердофазных копченых мясных пищевых продуктах

Аналит	ДОК, мкг/кг	R ²	ПО, мкг/кг	ПКО, мкг/кг	Повторяемость (ОСКО, n=3), % (C = 100 мкг/кг)	Внутрилабораторная воспроизводимость (ОСКО, n=3), % (C = 100 мкг/кг)
Фенол	1-5000	0,996	0,3	1	4,5	6,2
о-крезол	1-2000	0,992	0,3	1	4,7	7,5
п-крезол	1-2000	0,994	0,3	1	5,0	8,4
Эвгенол	1-3000	0,993	0,6	2	5,3	7,6
Изоэвгенол	1-3000	0,994	0,6	2	4,9	8,2
Гваякол	1-5000	0,992	1	3	5,6	6,8

Способ был применен для оценки содержания аналитов в пробах копченых твердофазных мясных продуктах (Таблица 28). Правильность результатов подтверждали сравнением с результатами, выполненными независимым способом. Согласно независимой процедуре, 0,5 г образца смешивали с 5 мл 0,1 моль/л раствора NaOH в течение 20 мин. и центрифугировали в течение 10 мин при 5000 об/мин. Супернатант смешивали с 1 мл 1 моль/л HCl и 1 мл CCl₄, центрифугировали в течение 5 мин при 4000 об/мин, и органическую фазу анализировали методом ГХ-МС. Хроматографическое разделение проводили с использованием капиллярной колонки SPB-624 MS (6% цианопропилфенил и 94% диметилполисилоксан, 30 м, 0,25 мм в.д., 0,25 мкм покрытие). Температура испарителя была 260 °С. Температурный градиент колонки начинался с 100 °С, затем температура повышалась со скоростью 10 °С/мин в течение 5 мин, удерживалась в течение 8 мин, затем температура повышалась со скоростью 15 °С/мин в течение 5 мин.

Высокоочищенный гелий (99,999%) использовался в качестве газа-носителя с постоянной скоростью потока 1 мл/мин.

Полученные результаты определения концентраций аналитов согласуются с результатами, полученными с использованием независимой процедуры на основе ГХ-МС метода. Значения $F < 19$ указывают на незначительную разницу в точности между обеими методиками на уровне доверия 95%. Значения $t < 2,78$ указывают на незначительную разницу между результатами, полученными с использованием этих методик.

Таблица 28 – Результаты определения содержания фенолов в твердофазных копченых мясных пищевых продуктах ($n=3$, $P=0,95$, $F=19$, $t=2,78$)

Образец	Аналит	Найдено, мг/кг		F-критерий	t-критерий
		Разработанный метод	Метод сравнения		
Копченая колбаса 1	Фенол	1,13 ± 0,01	1,24 ± 0,02	12,16	1,13
	Гваякол	0,76 ± 0,02	0,85 ± 0,02	14,49	1,3
	o-крезол	1,19 ± 0,02	1,25 ± 0,03	10,25	2,73
	n-крезол	1,78 ± 0,03	1,77 ± 0,05	8,27	2,61
	Эвгенол	1,16 ± 0,01	1,26 ± 0,01	9,17	1,95
	Изоэвгенол	2,15 ± 0,02	2,24 ± 0,01	11,12	1,69
Копченая колбаса 2	Фенол	0,43 ± 0,01	0,49 ± 0,02	9,69	1,65
	Гваякол	0,19 ± 0,02	0,16 ± 0,02	4,65	1,21
	o-крезол	<ПО	<ПО	–	–
	n-крезол	<ПО	<ПО	–	–
	Эвгенол	0,35 ± 0,01	0,39 ± 0,01	5,98	1,35
	Изоэвгенол	0,41 ± 0,02	0,51 ± 0,01	6,99	1,19
Копченая рыба	Фенол	1,35 ± 0,02	1,57 ± 0,03	8,14	2,18
	Гваякол	1,76 ± 0,03	1,83 ± 0,02	11,42	1,56
	o-крезол	0,74 ± 0,02	0,97 ± 0,03	15,22	2,3
	n-крезол	0,61 ± 0,02	0,69 ± 0,05	6,26	1,65
	Эвгенол	1,14 ± 0,01	1,21 ± 0,05	7,39	1,61
	Изоэвгенол	2,44 ± 0,02	2,26 ± 0,04	12,36	1,88

Впервые стратегия мембранной микроэкстракции на основе образования эвтектических растворителей была успешно применена в качестве нового подхода для пробоподготовки сложных пищевых образцов. Процедура включала экстракцию аналитов на основе *in situ* образования эвтектических растворителей между аналитами и хлоридом холина, удерживаемом на мембране. Использование мембраны позволило удобно отделить аналиты от суспензии образца без фильтрации и центрифугирования.

Предложенный способ извлечения аналитов является эффективным и селективным, однако требует продолжительного времени экстракции и дополнительного оборудования для перемешивания пробы. Эффективным методом интенсификации мембранной микроэкстракции является ее вариант с использованием вращающихся дисков, где экстрагент удерживается на поверхности или в порах мембраны, которая нанесена на диск, снабженный металлическим стержнем, который обеспечивает вращение данного диска под действием магнитного поля. Таким образом одно устройство обеспечивает как удерживание экстрагента, так и перемешивание раствора пробы. В данной работе впервые был представлен способ извлечения аналитов (галловая кислота, протокатеховая кислота, тирозол, ванилиновая кислота, *p*-кумариновая кислота, сиригальдегид и тимол) из пищевого масла за счет образования ЭР между ними и экстрагентом (хлоридом холина), удерживаемым на поверхности вращающегося диска (Рисунок 66). Для этого поверхность диска из поливинилиденфторида была покрыта хлоридом холина, который выступает в качестве акцептора водородных связей. Фенольные соединения, выступающие в качестве доноров водородных связей, эффективно извлекаются на поверхности диска во время его вращения за счет образования ЭР. Затем диск помещается в раствор элюента для разрушения данного ЭР и получения раствора аналитов для последующего анализа раствора методом ВЭЖХ-ФЛД.



Рисунок 66 – Схема микроэкстракции полифенольных соединений из пищевых масел с *in situ* образованием ЭР с хлоридом холина

Для создания вращающегося устройства было изготовлено 2 диска из поливинилиденфторида с диаметром 10 мм. Между дисками помещали слой парафильма М (диаметр 6 мм) и металлическую проволоку (длиной 6 мм). Систему зажимали между двумя стеклянными пластинами и нагревали при 60 °С в течение 15 мин в сушильном шкафу для плавления парафильма М и склеивания системы. Затем полученный диск пропитывали раствором хлорида холина (Рисунок 67).

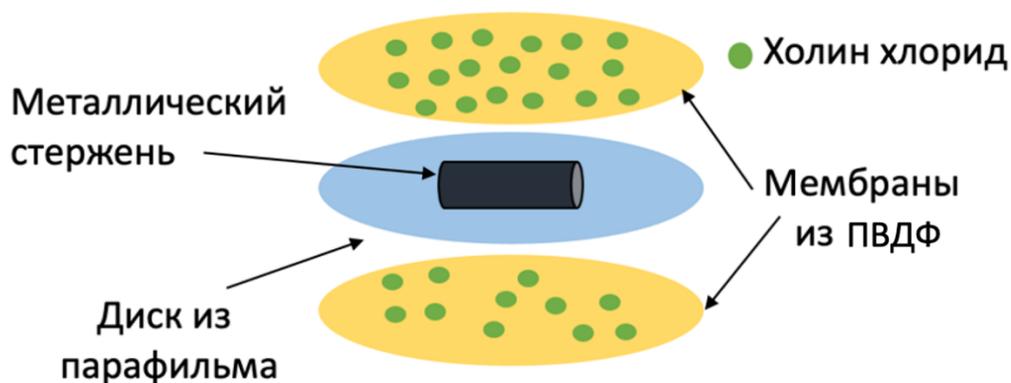


Рисунок 67 – Схема изготовления диска для экстракции аналитов

Диски сушили в сушильном шкафу для испарения растворителя и использовали в процедуре экстракции, согласно которой образец масла разбавляли гексаном для снижения вязкости пробы и уменьшения растворимости аналитов. Подготовленный диск помещали во флакон, который помещали на магнитную мешалку, обеспечивающую вращение диска в растворе пробы. После извлечения аналитов диск промывали гексаном для удаления избытка масла с его поверхности, помещали в раствор элюента (метанол/вода 1/2) и перемешивали для разрушения ЭР. Полученный раствор анализировали методом ВЭЖХ-ФЛД.

Для подтверждения модификации диска хлоридом холина, а также образования ЭР на его поверхности использовали методы ИК-спектromетрии, а также сканирующую электронную микроскопию. Были получены ИК-спектры исходного диска, диска пропитанного хлоридом холина и диска после экстракции фенольных соединений из раствора гексана. После пропитки диска хлоридом холина наблюдались пики -ОН связи в диапазоне 3200–3400 см^{-1} и пики C-N+ связи при 950 см^{-1} . Для подтверждения стабильности модифицированного диска его погружали в гексан на 10 мин (при 150 об/мин). После выдерживания в гексане были получены ИК спектры диска, которые совпали со спектрами исходного модифицированного диска, что указывает на стабильность хлорида холина на поверхности диска во время его вращения (Рисунок 68). После экстракции фенольных соединений в ИК-спектре диска наблюдались характерные пики карбоксильных групп (1690 см^{-1}), альдегидных групп (1590 см^{-1}) и эфирных групп (1292 см^{-1}), что подтверждает извлечение аналитов, а также наблюдалось изменение спектра в области 3000–3400 см^{-1} , что подтверждает образование водородных связей между фенольными соединениями и хлоридом холина.

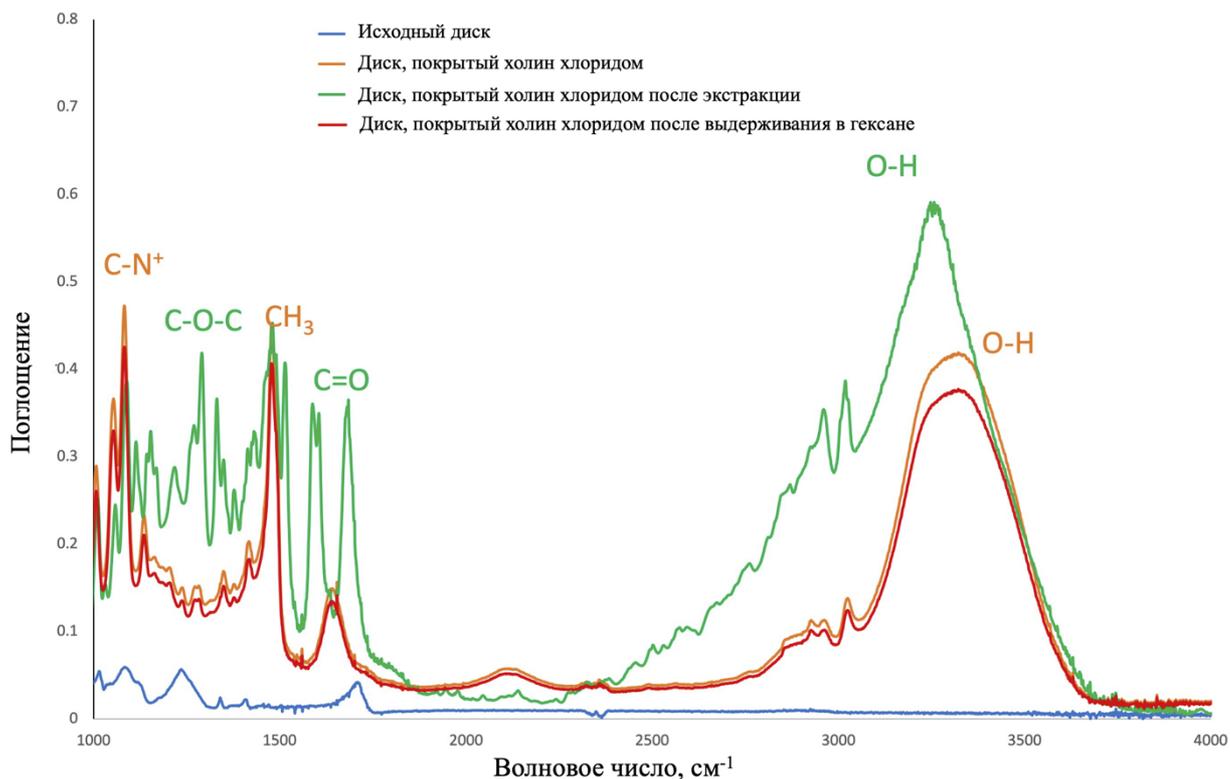


Рисунок 68 – ИК спектры исходного диска; диска, покрытого хлоридом холина; диска, покрытого хлоридом холина после выдерживания в гексане; диска, покрытого хлоридом холина после процесса экстракции аналитов

Для более детального изучения поверхности диска до модификации, после модификации холином и после извлечения аналитов ее исследовали методом сканирующей электронной микроскопии. Как видно из полученных результатов, до пропитки поверхность диска имела волокнистую структуру (Рисунок 69). После пропитки на поверхности диска образовалась достаточно гладкая пленка холина хлорида с небольшими неровностями (Рисунок 69). После экстракции СЭМ показал рыхлую структуру диска из-за образования на его поверхности менее стабильного ЭР (Рисунок 69).

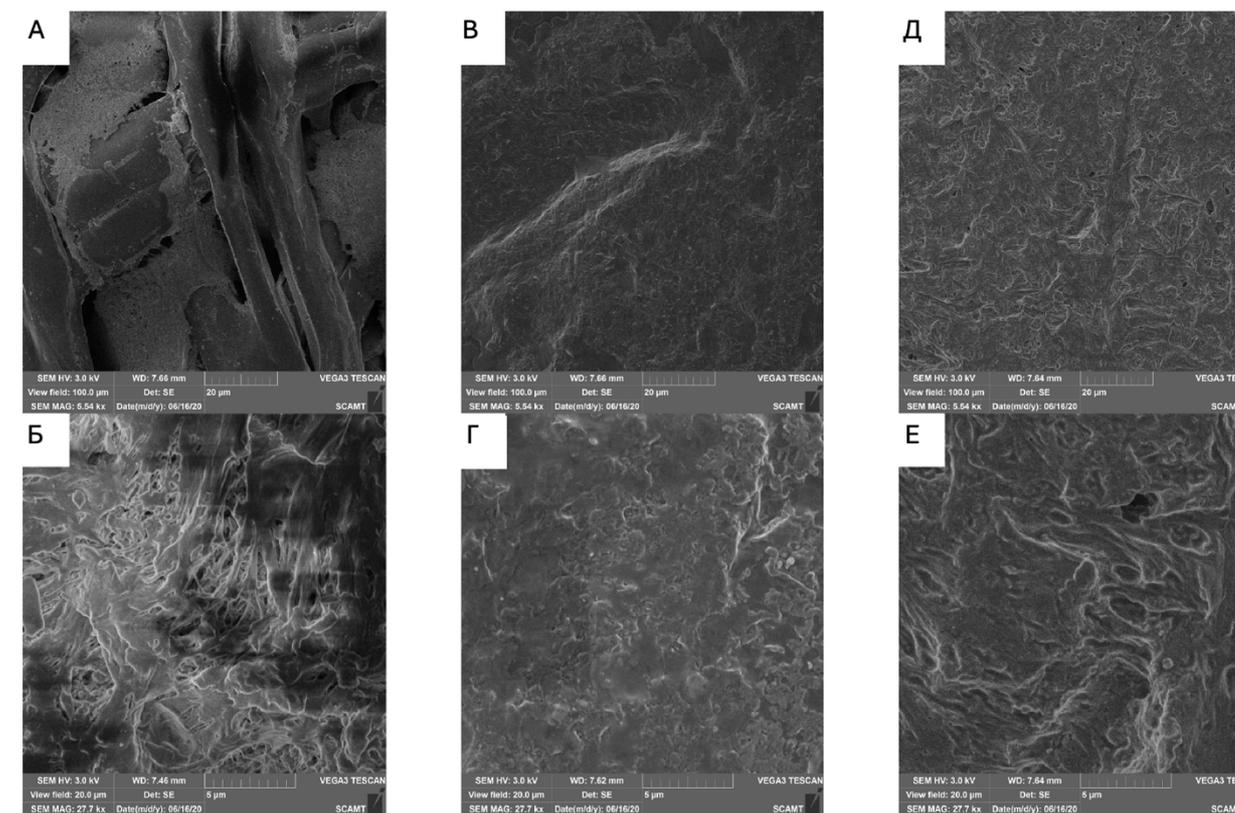


Рисунок 69 – Микрофотографии диска, полученные с помощью сканирующего электронного микроскопа, до пропитки (А, Б), после пропитки (В, Г) и сорбции (Д, Е) (концентрация аналитов – 20 мг/л, объем образца – 1 мл).

Как и в предыдущем исследовании, было необходимо выбрать наиболее подходящий материал для изготовления диска. Были исследованы четыре коммерчески доступные материалы: ацетат целлюлозы, нейлон, полиэфирсульфон и поливинилиденфторид. Диски (диаметр – 10 мм), покрытые хлоридом холина (10 мкл, 300 г/л), перемешивали (150 об/мин, 30 мин.) в смеси 2 мл пробы и 1 мл гексана. Затем диски промывали гексаном, и аналиты элюировали 250 мкл раствора метанол/вода. Полученные раствор анализировали методом ВЭЖХ-ФЛД. Было подтверждено, что среди исследованных материалов поливинилиденфторид также обеспечивал максимальное извлечение всех аналитов. Этот полимер является наиболее гидрофобным по сравнению с другими исследованными, что обеспечивало более эффективное смачивание мембраны органической фазой и, как

следствие, более высокий массоперенос аналитов и лучшее удерживание образованного ЭР.

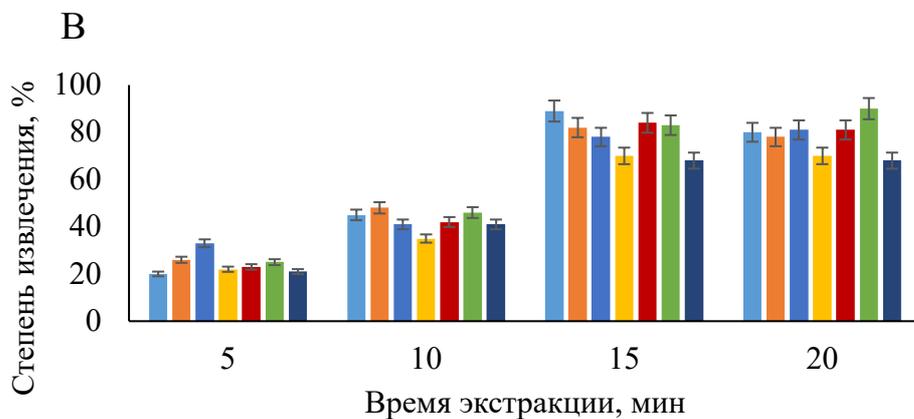
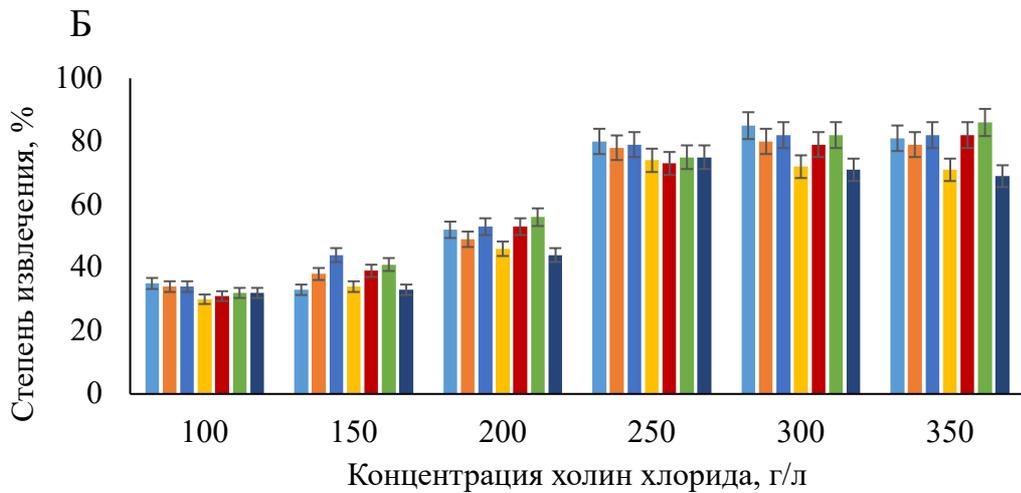
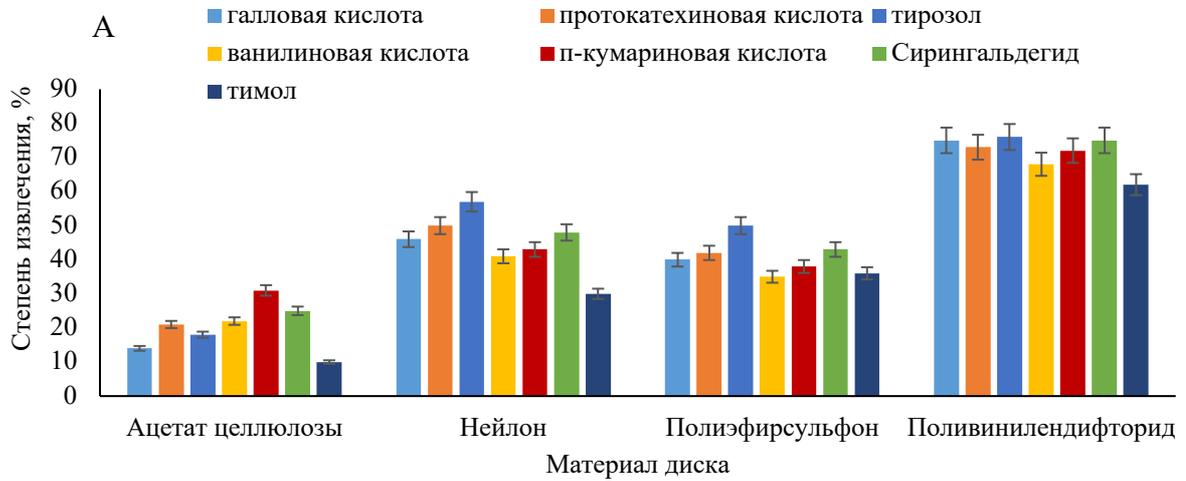
Для уменьшения вязкости пробы и улучшения диффузии аналитов к поверхности диска пробу разбавляли органическим растворителем. Были исследованы различные органические растворители, такие как гексан, гептан и изооктан. Значительного влияния типа n-алкана на степень извлечения обнаружено не было. Для дальнейших исследований был выбран гексан, так как это более летучий растворитель, что обеспечивало его быстрое испарение с поверхности диска перед элюированием аналитов.

Концентрация холина хлорида также влияет на степень извлечения аналитов. Исследовали различные концентрации холина хлорида (100, 150, 200, 250, 300 и 350 г/л). Объем раствора 10 мкл обеспечивал полное смачивание диска. Как показано на Рисунке 70, концентрация хлорида холина 300 г/л обеспечивала наибольшие степени извлечения аналитов на уровне 85 ± 5 % для галловой кислоты, 79 ± 4 % для протокатехиновой кислоты, 80 ± 5 % для тирозола, 69 ± 4 % для ванилиновой кислоты, 80 ± 5 % для п-кумаровой кислоты, 85 ± 6 % для сиреневого альдегида и 66 ± 3 % для тимола. Концентрация холина хлорида 300 г/л обеспечивала его равномерную пленку на поверхности диска, необходимую для эффективного и воспроизводимого извлечения аналитов. При концентрации выше, существенного изменения степени извлечения не наблюдалось.

Время экстракции варьировали в диапазоне от 1 до 20 мин при скорости вращения диска 150 об/мин. Большая скорость приводила к разбрызгиванию пробы. Было показано, что равновесие достигается через 15 мин (Рисунок 70).

После извлечения аналитов с поверхности диска для их элюирования использовали водно-спиртовой раствор. Метанол требовался для улучшения растворимости фенольных соединений в элюенте. Объем элюента варьировался от 0,1 до 0,5 мл, в то время как время элюирования варьировали от 1 до 10 мин. Оптимальные условия, обеспечивающие количественное элюирование аналитов, были выбраны следующие: время элюирования –

2 мин и объем элюента – 0,2 мл. Данные условия обеспечивали коэффициенты концентрирования 6,6–8,7 для различных фенольных соединений.



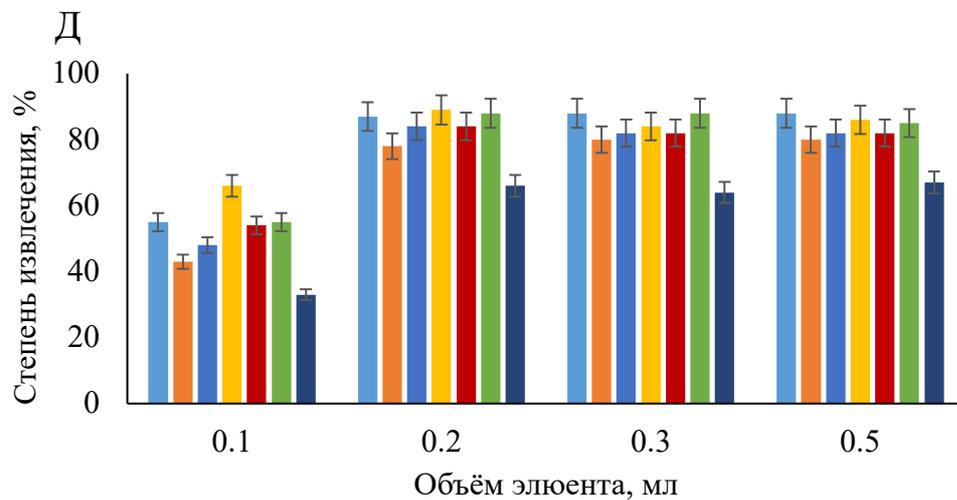
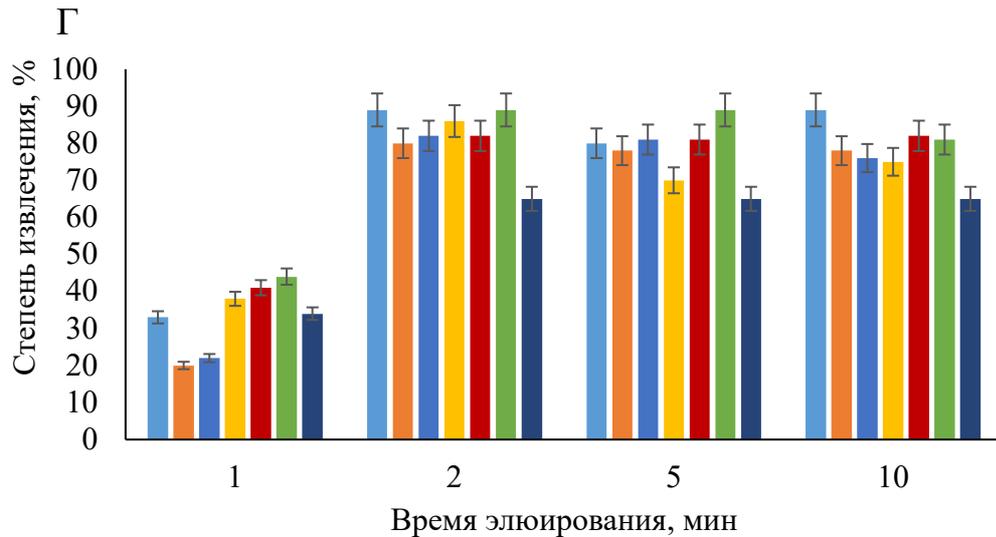


Рисунок 70 – Оптимизация условий извлечения полифенольных соединений из пищевого (n=3, С аналитов = 20 мг/л, объем образца 2 мл). (А) Влияние типа материала диска (диаметр диска 10 мм; концентрация хлорида холина 300 г/л; объем гексана 1 мл; время экстракции 30 мин; время элюирования 10 мин); (Б) Влияние концентрации хлорида холина (объем гексана 1 мл; время экстракции 30 мин; время элюирования 10 мин); (В) Влияние времени экстракции (концентрация хлорида холина 300 г/л; объем гексана 1 мл; время элюирования 10 мин); (Г) Влияние времени элюирования (концентрация хлорида холина 300 г/л; объем гексана 1 мл; время экстракции 15 мин); (Д) Влияние объема элюента (концентрация хлорида холина 300 г/л; объем гексана 1 мл; время экстракции 15 мин)

Результаты валидации разработанного способа представлены в Таблице 29. ДОК аналитов составил 0,01–100 мг/л для галловой кислоты, 0,02–100 мг/л для протокатеховой кислоты, 0,03–100 мг/л для тирозола, 0,06–100 мг/л для ванилиновой кислоты, 0,03–100 мг/л для п-кумаровой кислоты, 0,01–100 мг/л для сингальдегида и 0,06–100 мг/л для тимола ($R^2=0,998-0,999$). Пределы обнаружения (3σ) составили 0,003 мг/л для галловой кислоты, 0,006 мг/л для протокатеховой кислоты, 0,01 мг/л для тирозола, 0,02 мг/л для ванилиновой кислоты, 0,01 мг/л для п-кумаровой кислоты, 0,003 мг/л для сингальдегида и 0,02 мг/л для тимола соответственно. Пределы определения (10σ) составили 0,01 мг/л для галловой кислоты, 0,02 мг/л для протокатеховой кислоты, 0,03 мг/л для тирозола, 0,06 мг/л для ванилиновой кислоты, 0,03 мг/л для п-кумаровой кислоты, 0,01 мг/л для сингальдегида и 0,06 мг/л для тимола. Степени извлечения составили 66–87 %, коэффициенты концентрирования составили от 6,6 до 8,7. Для оценки прецизионности рассчитывали ОСКО. Значения ОСКО в условиях повторяемости и внутрилабораторной воспроизводимости составили 1,9–5,6 и 4,1–8 % соответственно. Полученные результаты были опубликованы в работе [291].

Таблица 29 – Аналитические характеристики разработанного способа определения полифенольных соединений в пищевых маслах

Параметр	Галловая кислота	Протокатехиновая кислота	Тирозол	Ванилиновая кислота	<i>n</i> -кумариновая кислота	Сирингальдегид	Тимол
ДОК, мг/л	0,01-100	0,02-100	0,03-100	0,06-100	0,03-100	0,01-100	0,06-100
R ²	0,999	0,998	0,999	0,999	0,999	0,999	0,998
Предел обнаружения (3σ), мг/л	0,003	0,006	0,01	0,02	0,01	0,003	0,02
Предел определения (10σ), мг/л	0,01	0,02	0,03	0,06	0,03	0,01	0,06
Коэффициент концентрирования	8,7	7,9	7,6	7,5	8,2	8,1	6,6
Степень извлечения, %	87	79	76	75	82	81	66
Повторяемость (ОСКО), % (0,06/50/100 мг/л)	4,1/3,8/2,8	4,4/3,9/3,1	4,7/3,9/3,2	4,5/3,5/2,9	3,5/3,1/1,9	4,6/3,9/2,5	5,6/4,8/2,7
Внутрилабораторная воспроизводимость, % (0,06/50/100 мг/л)	8/5,8/4,2	7,1/5,2/6,1	5,7/4,2/3,1	6,6/5,1/4,9	7,5/6,4/4,9	5,3/4,2/4,1	6,9/5,3/4,7

Способ был применен для оценки содержания аналитов в пробах пищевых масел (*extra virgin olive oil*, *virgin olive oil* и *organic BIO extra virgin olive oil*) (Таблица 30). Правильность результатов подтверждали методом «введено-найдено» и их сравнением с результатами, выполненными независимым способом. Согласно независимой процедуре 1 мл пробы смешивали с 2,5 мл гексана и 5 мл смеси метанол/вода (60/40, об/об). Смесь перемешивали в течение 10 мин. и центрифугировали при 6000 об/мин в течение 5 мин. Метанольно/водную фазу отделяли. Процедуру экстракции повторяли дважды. Полученные метанольно/водные фазы объединяли и центрифугировали в течение 5 мин при 6000 об/мин. Экстракт анализировали методом ГХ-МС.

Таблица 30 – Результаты определения полифенольных соединений в оливковых маслах (n = 3, P = 0,95, F = 19,00, t = 2,78)

Образец	Аналит	Концентрация, мг/л				F-критерий	t-критерий	Относительное смещение, %
		Разработанный способ		независимый способ				
		Введено	Найдено	Введено	Найдено			
Оливковое нерафинированное масло высшего качества (1)	галловая кислота	0	6,04 ± 0,02	0	6,11 ± 0,01	7,28	0,94	-
		10	15,87 ± 0,03	10	15,43 ± 0,02	4,22	1,19	1
	протокатехиновая кислота	0	0,92 ± 0,01	0	0,96 ± 0,01	12,63	1,17	-
		10	11,13 ± 0,02	10	10,19 ± 0,02	6,14	1,11	2
	тирозол	0	5,76 ± 0,03	0	5,81 ± 0,02	9,76	1,91	-
		10	15,17 ± 0,03	10	16,11 ± 0,03	6,81	1,25	4
	ванилиновая кислота	0	0,53 ± 0,03	0	0,61 ± 0,02	10,31	2,45	-
		10	10,14 ± 0,02	10	10,54 ± 0,02	3,12	1,65	4
	n-кумариновая кислота	0	1,25 ± 0,02	0	1,28 ± 0,01	7,16	1,22	-
		10	12,03 ± 0,02	10	11,34 ± 0,02	5,71	1,01	6
	Сирингальдегид	0	0,58 ± 0,01	0	0,64 ± 0,02	10,44	2,16	-
		10	11,03 ± 0,02	10	10,91 ± 0,02	4,98	0,91	4
	ТИМОЛ	0	0,32 ± 0,02	0	0,37 ± 0,01	11,82	1,37	-
		10	10,71 ± 0,03	10	10,98 ± 0,02	3,11	2,15	4

Продолжение таблицы

Образец	Аналит	Концентрация, мг/л				F- критерий	t- критерий	Относительное смещение, %
		Разработанный способ		независимый способ				
		Введено	Найдено	Введено	Найдено			
Оливковое нерафинированное масло	галловая кислота	0	1,16 ± 0,03	0	1,23 ± 0,02	9,47	1,15	-
		10	11,21 ± 0,02	10	11,97 ± 0,02	6,11	0,87	1
	протокатехиновая кислота	0	1,05 ± 0,01	0	1,11 ± 0,03	13,13	1,82	-
		10	12,11 ± 0,02	10	12,98 ± 0,03	5,98	1,73	9
	тирозол	0	12,68 ± 0,01	0	11,72 ± 0,01	14,21	2,54	-
		10	24,12 ± 0,02	10	21,54 ± 0,03	8,91	2,14	6
	ванилиновая кислота	0	0,57 ± 0,03	0	0,64 ± 0,02	7,39	1,26	-
		10	10,04 ± 0,02	10	11,34 ± 0,02	8,91	1,65	5
	п-кумариновая кислота	0	1,47 ± 0,02	0	1,53 ± 0,03	9,76	2,18	-
		10	11,67 ± 0,03	10	12,15 ± 0,03	12,95	1,18	2
	Сирингальдегид	0	0,65 ± 0,03	0	0,68 ± 0,02	6,65	1,53	-
		10	10,13 ± 0,02	10	12,51 ± 0,02	15,19	1,21	5
	ТИМОЛ	0	0,26 ± 0,04	0	0,31 ± 0,01	11,73	1,25	-
		10	9,45 ± 0,02	10	10,21 ± 0,02	14,91	1,98	8

Продолжение таблицы

Образец	Аналит	Концентрация, мг/л				F- критерий	t- критерий	Относительное смещение, %
		Разработанный способ		независимый способ				
		Введено	Найдено	Введено	Найдено			
Оливковое нерафинированное масло высшего качества (2)	галловая кислота	0	2,04 ± 0,02	0	2,21 ± 0,02	6,31	1,19	-
		10	13,23 ± 0,02	10	13,98 ± 0,03	7,11	1,65	9
	протокатехиновая кислота	0	3,81 ± 0,02	0	4,01 ± 0,03	7,45	1,12	-
		10	14,11 ± 0,03	10	16,43 ± 0,02	4,19	1,38	2
	тирозол	0	7,12 ± 0,02	0	7,01 ± 0,02	5,71	1,41	-
		10	16,15 ± 0,02	10	15,06 ± 0,03	3,18	0,76	6
	ванилиновая кислота	0	<ПО	0	<ПО	-	-	-
		10	10,56 ± 0,03	10	10,88 ± 0,02	6,12	1,41	5
	n-кумариновая кислота	0	<ПО	0	<ПО	-	-	-
		10	10,21 ± 0,02	10	9,56 ± 0,03	6,18	1,87	2
	Сирингальдегид	0	5,12 ± 0,02	0	5,78 ± 0,02	9,52	1,13	-
		10	14,23 ± 0,03	10	14,78 ± 0,02	12,11	1,95	6
	ТИМОЛ	0	4,12 ± 0,02	0	4,35 ± 0,01	6,41	1,56	-
		10	14,98 ± 0,03	10	14,54 ± 0,02	5,11	1,15	6

Галловая кислота, протокатеховая кислота, тирозол, ванилиновая кислота, *n*-кумариновая кислота, сиригальдегид и тимол были обнаружены во всех проанализированных образцах. Установленные концентрации фенольных соединений сопоставимы с уровнями, приведенными в литературе. Аналитические результаты согласуются с результатами, полученными с использованием независимой процедуры.

Таким образом, в данной работе был предложен новый вариант мембранной микроэкстракции на основе вращающегося диска за счет образования на его поверхности ЭР между аналитами и холином хлорида. Механизм экстракции, основанный на образовании и разложении эвтектических растворителей, обеспечивает селективное извлечение органических аналитов из сложной по составу матрицы пробы. Разработанная процедура проста в применении, не требует центрифугирования пробы для разделения водно-органических эмульсий и может быть совмещена с многими методами анализа.

В данных примерах была продемонстрирована возможность извлечения аналитов из сложных по составу проб, когда сам аналит выступает в качестве компонента ЭР. Однако не все аналиты способны образовывать ЭР или достаточно трудно подобрать оптимальный донор или акцептор водородной связи для реализации данного процесса. Однако не только аналиты могут образовывать ЭР, но и компоненты матрицы пробы, которые обычно оказывают мешающее влияние, сами могут выступать компонентами эвтектического растворителя, который образуется *in situ*. К таким пробам относятся продукты, содержащие жирные кислоты, например, в форме триглицеридов. Щелочной гидролиз таких проб приведет к образованию свободных жирных кислот, которые могут выступать в качестве доноров водородной связи при образовании ЭР, например, с терпенодидами (тимол и ментол). Образование фазы ЭР *in situ* между экстрагентом и компонентом пробы, в свою очередь, обеспечит эффективное извлечение неполярных аналитов, например, бисфенолов. Бисфенолы широко используются в

производстве пластиковых материалов, которые используются в изготовлении упаковок для продуктов питания. Данные соединения могут концентрироваться в фазе жиров, что приведет к их поступлению в организм при потреблении данных продуктов. С учетом этого факта в данной работе был предложен новый вариант реализации микроэкстракции за счет *in situ* образования ЭР между компонентом пробы (жирными кислотами) сухого молока и терпенодами (Рисунок 71). Для интенсификации процесса экстракции также как и в предыдущем примере был использован вариант микроэкстракции с вращающимся диском, на поверхности которого в данном случае удерживался терпеноид, выступающий в качестве экстрагента.

Для изготовления диска в данном подходе использовали гидрофобную мембрану диаметром 10 мм. Между дисками из мембраны помещали слой парафильма М (диаметр 6 мм) и металлическую проволоку (длиной 6 мм). Систему зажимали между двумя стеклянными пластинами и нагревали при 60 °С в течение 15 мин. в сушильном шкафу для плавления парафильма М и склеивания системы. Затем на поверхность полученного диска на весах помещали 10 мг терпеноида и диск помещали в сушильный шкаф при 60 °С для плавления терпеноида и пропитки им диска. В дальнейшем данный модифицированный диск использовали в процедуре экстракции.

Согласно процедуре на первом этапе к пробе сухого молока добавляли аликвоту раствора NaOH (2 мл) и проводили щелочной гидролиз при нагревании. Это приводило к разрушению триглицеридов и образованию водорастворимых солей жирных кислот. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли аликвоту раствора HCl (2 мл) для нейтрализации избытка NaOH и перевода солей жирных кислот в форму протонированных жирных кислот. На этом этапе в данный раствор помещали модифицированный диск и перемешивали смесь за счет вращения диска с помощью магнитной мешалки. Это приводило к образованию фазы ЭР на поверхности диска за счет взаимодействия жирных кислот и терпеноида и извлечению аналитов (бисфенол А, С, F). Затем диск вынимали, промывали

водой, переносили в чистый стеклянный флакон с раствором элюента. Раствор перемешивали за счет вращения диска, что приводило к растворению и разрушению ЭР и полученный раствор анализировали методом ВЭЖХ-ФЛД.

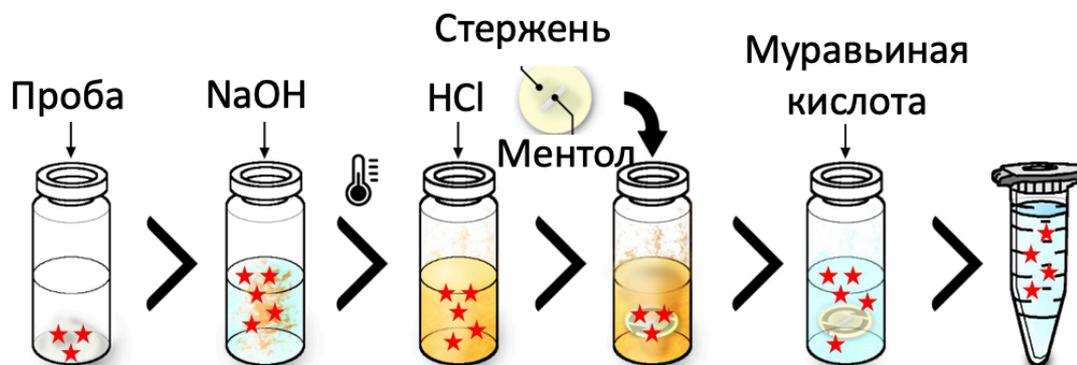


Рисунок 71 – Схема микроэкстракции бисфенолов из пробы сухого молока с *in situ* образованием ЭР из компонентов пробы

В таком варианте реализации жидкостной микроэкстракции извлечение бисфенолов из матрицы молока было основано на их экстракции в фазу ЭР, образованного *in situ* на поверхности диска. В этом случае диск с одной стороны служил зоной для образования ЭР, а с другой – устройством для интенсификации массопереноса. Быстрое вращение диска обеспечивало эффективный контакт между смесью и поверхностью диска.

В качестве компонента ЭР были использованы два терпеноида – тимол и ментол. Для этого проводили щелочной гидролиз сухого молока, содержащий аналиты в концентрации 0,05 мг/кг в присутствии раствора NaOH (2 мл, 1,0 моль/л) при нагревании при 80 °С в течение 15 мин. Затем смесь подкисляли раствором HCl (2 мл, 1,0 моль/л). Диск, на поверхность которого предварительно нанесли 15 мг соответствующего терпеноида, помещали в реакционную емкость для перемешивания системы и образованию фазы ЭР на его поверхности. Затем диски вынимали и помещали в метанол для элюирования аналитов. Из полученных результатов (Рисунок 72) видно, что ментол как акцептор водородной связи обеспечивал более высокую степень

извлечения аналитов по сравнению с тимолом. Тимол (0,9 г/л) более растворим в воде по сравнению с ментолом (0,4 г/л). Это может приводить к его частичному растворению в фазе пробы, что приводит к снижению степени извлечения аналитов.

Для подтверждения образования ЭР на поверхности диска были получены ИК-спектры диска до модификации, после нанесения ментола и после проведения стадии экстракции. Как видно из полученных результатов (Рисунок 73), после пропитки диска ментолом можно наблюдать характерные для него полосы поглощения. После экстракции на поверхности диска появляется новая полоса поглощения в области 1700 см^{-1} , соответствующая связи $\text{C}=\text{O}$ в группе жирных кислот. Это подтверждает удерживание жирных кислот на поверхности диска. Также наблюдалось значительное изменение в области $3000\text{--}3500\text{ см}^{-1}$, что подтверждает образование новых водородных связей между жирными кислотами и ментолом на поверхности диска.

В данном варианте сухое молоко служило источником жирных кислот для образования фазы ЭР на поверхности диска. Известно, что содержание жиров в сухом молоке может варьироваться, и чаще всего на рынке представлены пробы с содержанием жиров 26 и 42 %. Таким образом, масса молока оказывает существенное влияние на процесс экстракции. Массу пробы варьировали от 50 до 300 мг. Образец смешивали с 2 мл раствора NaOH (2 моль/л) в течение 30 мин. при 80°C . После подкисления смеси (2 мл раствора HCl, 2 моль/л) в систему вводили диск и реализовали стадию экстракции в течение 20 мин. Максимальные значения степеней извлечения для всех бисфенолов наблюдались в диапазоне от 50 до 150 мг для молока, содержащего 26 % триглицеридов, и в диапазоне от 50 до 100 мг для молока, содержащего 42 % триглицеридов (Рисунок 72). Это объясняется различным объемом фазы жирных кислот после реализации процедуры экстракции. В качестве оптимального значения была выбрана масса пробы 100 мг.

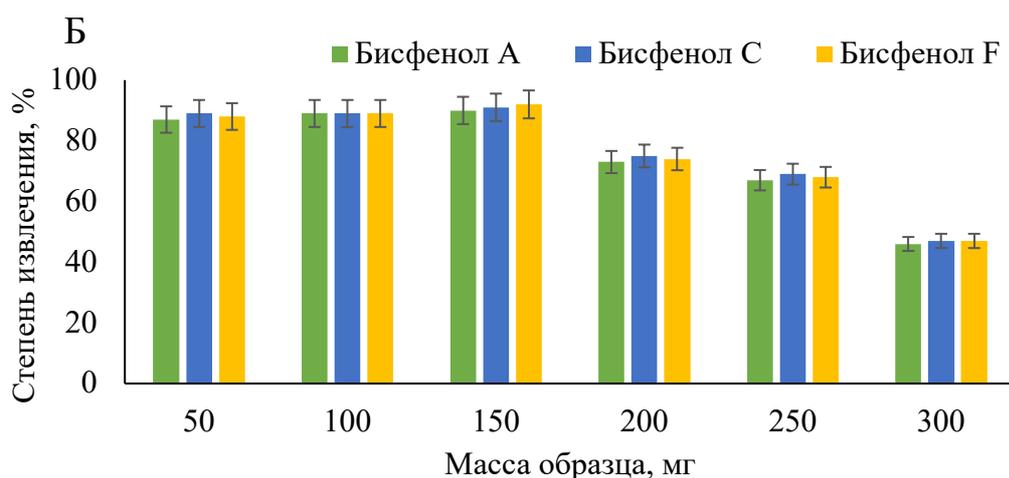
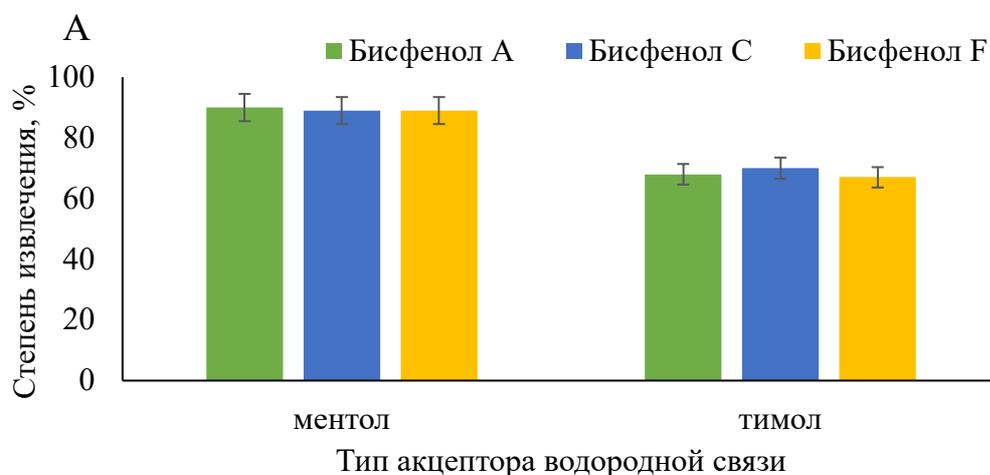
Щелочной гидролиз молока проводили для получения водорастворимых солей жирных кислот, которые затем переводятся в гидрофобные формы

(жирные кислоты) в кислой среде. Для гидролиза триглицеридов использовали раствор NaOH, а для подкисления системы – раствор HCl. Для получения оптимальных условий концентрации данных растворов были оптимизированы. Гидролиз проводили с использованием 100 мг образца сухого молока с концентрацией аналитов 0,05 мг/кг с максимальным содержанием жира (42 %) и 2 мл раствора NaOH. Концентрацию щелочи варьировали от 1 до 4 моль/л. Было обнаружено, что концентрация NaOH 2 моль/л обеспечивала полноту протекания гидролиза. Концентрацию HCl также варьировали от 1 до 4 моль/л. Концентрация HCl выше 2 моль/л обеспечивала кислую среду (pH 0,5–1) после нейтрализации избытка гидроксида натрия и полный перевод жирных кислот в нейтральные формы.

Щелочной гидролиз триглицеридов является гетерогенной реакцией и имеет медленную кинетику, а также требует нагревания реакционной смеси. Для сокращения времени пробоподготовки было изучено влияние температуры и времени гидролиза на степень извлечения аналитов. Температуру варьировали в диапазоне от 60 до 100°C при времени перемешивания 30 мин. Максимальная степень извлечения для всех аналитов достигалась при 80 °C. При фиксированной температуре 80°C время гидролиза варьировали от 5 до 30 мин. Было обнаружено, что оптимальное время гидролиза составляет 15 мин.

В данной работе ментол использовали как акцептор водородной связи для образования ЭР на поверхности диска. Недостаток ментола на поверхности диска не обеспечивал полноту извлечения жирных кислот, что привело к остаточному содержанию аналитов в пробе. Избыток ментола может привести к получению невоспроизводимых результатов за счет его переноса в раствор пробы при вращении диска. Массу ментола варьировали от 5 до 20 мг. Оптимальная масса ментола составляла 10 мг, которая обеспечивала полное и воспроизводимое извлечение аналитов. Время вращения варьировали от 1 до 10 мин, и было обнаружено, что 5 мин достаточно для достижения степени извлечения аналитов более 90 %.

Для элюирования бисфенолов за счет разрушения ЭР были изучены такие растворители как метанол, ацетонитрил и муравьиная кислота. Для полного смачивания диска требовалось минимум 200 мкл полярного органического растворителя. Все растворители обеспечивали сравнимые степени извлечения аналитов (85–95 %). В качестве наиболее экологичного растворителя выбрали муравьиную кислоту. Время элюирования варьировали от 1 до 5 мин, и 2 мин было достаточно для количественного элюирования аналитов.



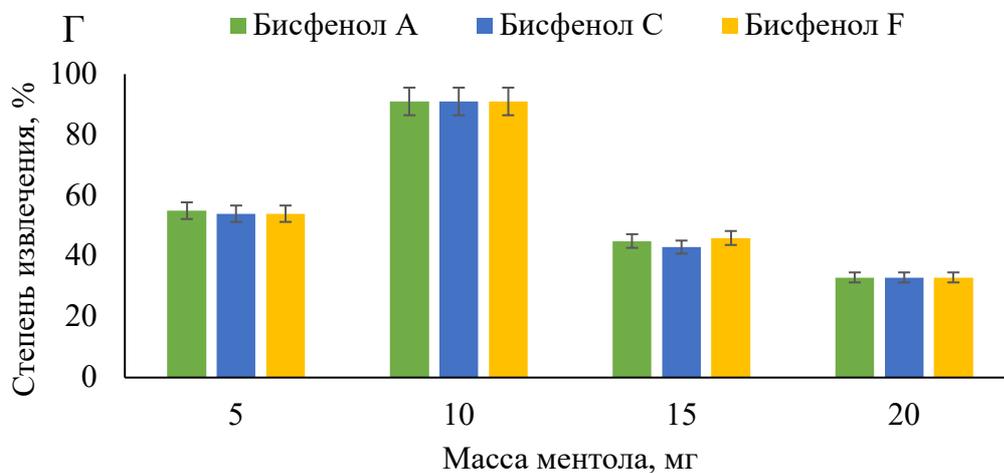
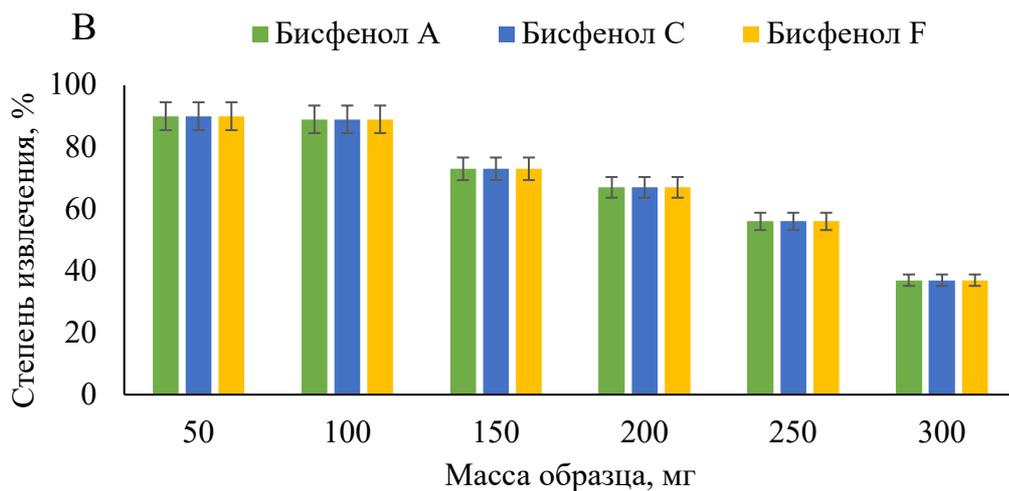


Рисунок 72 – Оптимизация условий извлечения бисфенолов из образцов сухого молока ($n=3$, время гидролиза 15 мин, температура гидролиза 80 °С, концентрация NaOH 2 моль/л, С бисфенолов 50 мкг/к): (А) Влияние акцептора водородной связи на степень извлечения аналитов (жирность пробы 42 %, масса образца 100 мг); (Б) Влияние массы образца на степень извлечения аналитов (жирность пробы 26 %); (В) Влияние массы образца на степень извлечения аналитов (жирность пробы 42 %); (Г) Влияние массы ментола на степень извлечения аналитов (жирность пробы 42 %, масса образца 100 мг).

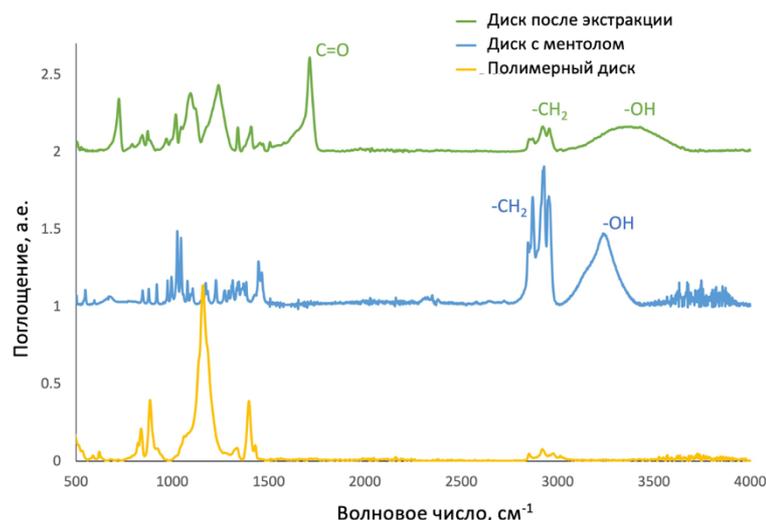


Рисунок 73 – ИК-спектры исходного диска; диска, прокрытого ментолом; диска, прокрытого ментолом после процесса экстракции аналитов

Результаты валидации разработанного способа представлены в Таблице 31. Градуировочные зависимости были построены с использованием СО состава раствора бисфенолов (БФА-ПА). Раствор аналитов наносили на пробы сухого молока, которые проводили через все стадии пробоподготовки для построения градуировочной зависимости. ДОК бисфенолов составил от 1 до 20000 мкг/кг для бисфенола А, от 1,5 до 20000 мкг/кг для бисфенола С и от 1,5 до 20000 мкг/кг для бисфенола F. Коэффициенты детерминации (R^2) были выше 0,995. Пределы обнаружения (3σ) составили 0,3 мкг/кг для бисфенола А, 0,5 мкг/кг для бисфенола С и 0,5 мкг/кг для бисфенола F соответственно. Пределы определения (10σ) составил и 1 мкг/кг для бисфенола А, 0,15 мкг/кг для бисфенола С и 1,5 мкг/кг для бисфенола F соответственно. Степень извлечения составила 95-97 %. Для оценки прецизионности рассчитывали ОСКО. Значения ОСКО в условиях повторяемости и внутрिलाбораторной воспроизводимости составили 6 % и 8 % соответственно.

Способ был применен для оценки содержания аналитов в пробах сухого молока с различным содержанием жира (от 26 % до 42%) (Таблица 32). Правильность результатов подтверждали методом «введено-найдено» и их

сравнением с результатами, полученными независимым способом. Во всех образцах содержание бисфенолов было ниже ПО.

В качестве независимой процедуры использовали способ, описанный в работе [292]. Для этого 100 мг сухого молока смешивали с 2,0 мл воды. Затем добавляли 1,0 мл гексана, смесь перемешивали 1 мин. и центрифугировали при 6000 об/мин в течение 10 мин. Водную фазу подкисляли раствором HCl (100 мкл, 0,2 моль/л), затем добавляли 1,0 мл хлороформа и перемешивали 1 мин. После центрифугирования органическую фазу (900 мкл) испаряли в потоке азота и растворяли остаток в метаноле (100 мкл). Полученный раствор анализировали методом ВЭЖХ-ФЛД.

Также анализировали стандартный образец сухого молока МСО 2127:2018 (Петроаналитика, Россия). В этом случае применяли t-критерий для установления статистической значимости результатов, и t критическое (2.78) было выше t ожидаемого (2.18). Результаты показали, что между сертифицированной и установленной концентрацией нет статистически значимых различий. Полученные результаты были опубликованы в работе [293].

Таблица 31 – Аналитические характеристики разработанной процедуры определения бисфенолов в сухом молоке

Аналит	ДОК, мкг/кг	R ²	Предел обнаружения, мкг/кг	Предел определения, мкг/кг	Степень извлечения, %	Повторяемость (ОСКО, C = 50 мкг/кг, n = 5), %	Внутрилабораторная воспроизводимость (ОСКО, C = 50 мкг/кг, n = 10), %
Бисфенол А	1,0-20000	0,996	0,3	1,0	97	5,5	7,8
Бисфенол С	1,5-20000	0,995	0,5	1,5	95	5,8	8,5
Бисфенол F	1,5-20000	0,996	0,5	1,5	96	6,0	7,6

Таблица 32 – Результаты определения бисфенолов в СО и образцах сухого молока с использованием разработанной и независимой процедур ($n = 3$, $P = 0,95$, $F = 19,00$, $t = 2,78$)

Образец	Аналит	Введено, мкг/кг	Найдено, мкг/кг		Относительное смещение, %	t-критерий	F-критерий
			Разработанный способ	Независимый способ			
Стандартный образец сухого молока (МСО 2127:2018)	Бисфенол А	100	104 ± 5	109 ± 4	4	0,45	5,67
	Бисфенол F	100	107 ± 4	99 ± 2	7	0,94	7,48
	Бисфенол С	100	103 ± 2	106 ± 3	3	1,42	8,45
Сухое молоко (жирность 26 %)	Бисфенол А	0	<ПО	<ПО	–	–	–
		50	48,6 ± 2,0	49,5 ± 3,0	3	0,93	12,33
	Бисфенол F	0	<ПО	<ПО	–	–	–
		50	49,3 ± 2,0	49,4 ± 1,0	1	0,45	4,86
	Бисфенол С	0	<ПО	<ПО	–	–	–
		50	48,6 ± 3,0	49,3 ± 2,0	3	0,65	7
Сухое молоко (жирность 42 %) (1)	Бисфенол А	0	<ПО	<ПО	–	–	–
		50	49,4 ± 2,0	49,4 ± 3,0	1	0,71	10,33
	Бисфенол F	0	<ПО	<ПО	–	–	–
		50	47,3 ± 1,0	49,3 ± 1,0	5	1,93	7,86
	Бисфенол С	0	<ПО	<ПО	–	–	–
		50	48,7 ± 2,0	49,3 ± 2,0	3	0,52	5,75

Продолжение таблицы

Образец	Аналит	Введено, мкг/кг	Найдено, мкг/кг		Относительное смещение, %	t-критерий	F-критерий
			Разработанный способ	Независимый способ			
Сухое молоко (жирность 42 %) (2)	Бисфенол А	0	<ПО	<ПО	–	–	–
		50	49,7 ± 2,0	48,5 ± 2,0	1	1,03	4,33
	Бисфенол F	0	<ПО	<ПО	–	–	–
		50	49,3 ± 1,0	49,3 ± 2,0	1	0,56	4,71
	Бисфенол С	0	<ПО	<ПО	–	–	–
		50	47,9 ± 2,0	49,5 ± 2,0	4	0,97	5,12

Таблица 33 – Сравнение аналитических характеристик предложенной процедуры и описанных в литературе для определения бисфенолов в молоке

Образец	Аналиты	Пробоподготовка	Экстрагент/ сорбент	Время подготовки образца, мин	Метод анализа	ПО, мкг/кг	Ссылка
Молоко	Бисфенол А	Обезжиривание (1 мл гексана), ЖФЭ	Хлороформ	90	ВЭЖХ с флуоресцентным детектированием	0,1	[292]
Молоко	Бисфенол А	Разведение (9 мл смеси вода/метанол), ТФЭ, элюирование (7 мл метанола)	ТФЭ -картридж	30	ВЭЖХ-МС	2	[294]
Молоко	Бисфенол А, В, С, Е, F	Осаждение белка (5 мл муравьиной кислоты в ацетонитриле, 1 г сульфата магния и 2 г хлорида натрия), ТФЭ, элюирование (0,1 мл смеси муравьиной кислоты и ацетонитрила)	ТФЭ -картридж	60	ВЭЖХ с флуоресцентным детектированием	1-3	[295]
Молоко	Бисфенол А	Осаждение белка (0,3 мл метанола, 0,25 мл муравьиной кислоты), центрифугирование и ТФЭ	ТФЭ-картридж	270	ВЭЖХ-МС	1	[296]
Сухое молоко	Бисфенол А, С, F	Гидролиз жиров, ЖМЭ. 2 мл раствора NaOH, 2 мл раствора HCl, 10 мг ментола, 200 мл муравьиной кислоты	ЭР	25	ВЭЖХ с флуоресцентным детектированием	0,3-0,5	Данная работа
<p>ВЭЖХ - высокоэффективная жидкостная хроматография, ВЭЖХ-МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией, ЖФЭ - жидкофазная экстракция, ЖФМЭ – жидкофазная микроэкстракция, ТФЭ – твердофазная экстракция, ТФМЭ – твердофазная микроэкстракция, ПМО - полимер с молекулярными отпечатками, ЭР –эвтектический растворитель.</p>							

Разработанная процедура ВЭЖХ-ФЛД имеет сопоставимые ПО и время подготовки образцов с процедурами, представленными в литературе (Таблица 33). Обычно процедуры, описанные в литературе, предполагают предварительное извлечение жиров с помощью гексана и осаждение белков с использованием полярных органических растворителей (метанол, ацетонитрил). Эти процедуры требуют центрифугирования и использования большого количества органических растворителей. В разработанной процедуре дополнительное удаление белков молока и центрифугирование не требуются. Кроме того, молочные жиры использовали для приготовления экстрагента *in situ*, для чего потребовалось всего 10 мг ментола.

Предложенная процедура также может потенциально использоваться для извлечения других неполярных и слабо полярных соединений из сухого молока и молочных продуктов, таких как антибиотики, полициклические ароматические углеводороды или другие лекарственные вещества (не способных к гидролизу). Также эту процедуру можно использовать для пробоподготовки проб других продуктов питания, содержащих жиры, например пищевых масел или ореховых паст. Кроме того, эта процедура может быть совмещена не только с хроматографическими, но и со спектральными или электрохимическими методами анализа.

Таким образом, в данной главе работы была показана новая возможность использования ЭР в микроэкстракционных методах анализа при анализе образцов сложной природы. Данная возможность была реализована за счет *in situ* образования ЭР как между экстрагентом и аналитом, так и между экстрагентом и компонентом матрицы пробы. Такая реализации микроэкстракционного процесса позволяет эффективно, селективно и экспрессно извлекать широкий круг аналитов без использования существенного объема органических растворителей.

Были разработаны новые подходы к микроэкстракции на основе *in situ* образования эвтектических растворителей, которые продемонстрировали свою эффективность для анализа различных типов образцов. Исследования

показали, что использование ментола и хлорида холина в качестве экстрагентов позволяет существенно улучшить характеристики экстракции, такие как селективность, чувствительность и воспроизводимость.

Для экстракции НПВВ из мочи метод на основе *in situ* образования ЭР между ментолом и диклофенаком или кетопрофеном позволил достичь высоких значений аналитического сигнала и высокой воспроизводимости анализа в оптимальных условиях. Разработанная процедура исключает использование токсичных органических растворителей и значительно сокращает время пробоподготовки.

Метод мембранной микроэкстракции для фенольных и полифенольных соединений из пищевых продуктов продемонстрировал высокую эффективность и селективность. Использование хлорида холина в качестве экстрагента на поверхности мембраны позволило достичь высоких степеней извлечения для различных фенольных соединений. Оптимизация параметров экстракции, таких как тип мембраны, концентрация экстрагента и условия экстракции, обеспечила высокую воспроизводимость результатов.

Метод *in situ* образования ЭР для экстракции бисфенолов из сухого молока с использованием терпенидов и вращающегося диска показал высокую степень извлечения и воспроизводимость результатов. Использование жирных кислот, образующихся при щелочном гидролизе молока, для формирования ЭР с терпеноидом, позволило эффективно экстрагировать бисфенолы из сложной матрицы.

Таким образом, были выявлены основные закономерности для эффективной реализации микроэкстракции на основе *in situ* образования ЭР. Было показано, что правильный выбор компонента ЭР в качестве экстрагента для его *in situ* образования в процессе извлечения аналитов является ключевым параметром разработки эффективной процедуры экстракции. Для извлечения аналитов из водных растворов необходимо использовать неполярные компоненты, такие как ментол, для *in situ* образования гидрофобных, устойчивых в воде растворе ЭР. Подобные механизмы экстракции

реализуются и для процессов, в которых ЭР образуется *in situ* из компонентов матрицы пробы для извлечения аналитов из водных растворов. В данном случае также необходимо использовать наиболее неполярные прекурсоры ЭР, например ментол, показал лучшие результаты по сравнению с тимолом.

Наоборот, для извлечения полярных аналитов, таких как производные фенола, необходимо использовать полярные компоненты ЭР, такие как холин хлорид. Разработанные подходы являются простыми и эффективными для определения широкого спектра аналитов в биологических и пищевых образцах. Они могут быть использованы в сочетании с различными инструментальными методами анализа, такими как ВЭЖХ-УФ, ВЭЖХ-ФЛД и ВЭЖХ-МС, что расширяет их применение в рутинной аналитической практике.

Глава 6. Реакционная микроэкстракция с применением эвтектических растворителей

Микроэкстракция является важным инструментом в аналитической химии, позволяя эффективно извлекать аналиты из сложных матриц для последующего анализа. Большинство методов микроэкстракции основано на механизме физического распределения аналитов, когда аналиты распределяются между двумя фазами на основе их физико-химических свойств, в первую очередь, полярности. Однако такой подход имеет ряд ограничений, включая необходимость использования больших объемов растворителей, длительное время экстракции и не всегда позволяет добиться высокой степени извлечения аналитов.

Альтернативой экстракции за счет физического распределения является реакционная микроэкстракция, которая открывает новые возможности для повышения эффективности и селективности процесса экстракции. В отличие от экстракции по механизму физического распределения, реакционная микроэкстракция включает химические взаимодействия между аналитом и экстрагентом или дополнительными реагентами, что позволяет значительно увеличить степень извлечения целевых соединений.

Преимущества реакционной микроэкстракции включают в себя более высокую селективность, так как химические реакции позволяют избирательно выделять целевые аналиты даже в присутствии сложных матриц. Это уменьшает влияние мешающих компонентов и повышает точность и воспроизводимость анализа.

Реакционная микроэкстракция также сокращает время пробоподготовки, так как процессы дериватизации и экстракции аналитов могут происходить одновременно. Это значительно ускоряет получение результатов, что особенно важно при анализе большого количества образцов, например, в пищевой или клинической химии.

Таким образом, переход от экстракции за счет физического распределения к реакционной микроэкстракции открывает дополнительные возможности пробоподготовки.

В предыдущем разделе был описан способ микроэкстракции за счет образования ЭР между аналитами или компонентами пробы и компонентом ЭР. Данный способ можно отнести к реакционной микроэкстракции, когда аналитическая форма или экстрагент образуется за счет образования водородных связей между донором и акцептором в процессе экстракции. Однако непосредственно реакционная микроэкстракция подразумевает дериватизацию аналита с переводом его в более подходящую для извлечения форму. К реакционной микроэкстракции обычно относят образование устойчивых комплексов или ионных ассоциатов аналитов со специально введенными в систему реагентами для перевода аналитов в новые формы, которые будут более эффективно извлекаться в используемые экстрагенты. Однако ЭР, в состав которых могут входить многие вещества, способные вступать в различные реакции, сами могут служить одновременно и экстрагентом и источником реагентов для дериватизации аналитов. Это открывает возможности проведения реакционной микроэкстракции в среде ЭР, например, для элементного анализа.

Традиционные методы элементного анализа, например, пищевых масел чаще всего включают такие агрессивные способы пробоподготовки, как микроволновое разложение, которые требуют дополнительного оборудования, а также опасных химических реагентов. Это вызывает значительные временные и экономические затраты. Для преодоления данных ограничений в данной работе была разработана процедура реакционной микроэкстракции металлов из пищевого масла с использованием эвтектических растворителей для последующего элементного анализа с помощью метода оптико-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой. Данное исследование было направлено на разработку способа, который будет менее опасным для окружающей среды и более

экономически эффективными. Для этого в данной работе в качестве экстрагента использовали эвтектические растворители на основе холина хлорида и ряда донора водородной связи, которые позволили изготовить гидрофильные и квазигидрофобные ЭР. В данной работе было детально исследовано влияние природы донора водородной связи в составе ЭР на степень извлечения различных металлов (Ag, Al, B, Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sn, Ti, V и Zn) из неполярной матрицы пищевого масла.

В качестве акцептора водородной связи использовали наиболее распространенный и доступный холин хлорид. В качестве ДВС были использованы представители различных классов соединений, такие как спирты, мочевины и ее производные, углеводы и кислоты. Все перечисленные ДВС могут по-разному влиять на экстракционные свойства полученных ЭР в отношении катионов металлов. Полиолы и производные мочевины могут образовывать комплексы с многозарядными металлами. Также кислоты могут образовывать комплексы или соли металлов. Таким образом, образование комплексов или солей может способствовать массопереносу аналитов в фазу ЭР. Для детального изучения влияния природы ДВС на экстракцию металлов из неполярных органических жидких матриц были исследованы следующие вещества: спирты (глицерин, этиленгликоль, 1,4-бутандиол, триэтиленгликоль, циклогексанол), кислоты (лимонная, винная, щавелевая, бензойная, малоновая, уксусная, муравьиная, яблочная, янтарная, малеиновая, адипиновая, борная, аскорбиновая, молочная, миндальная, галловая), мочевины и ее производные (мочевина, тиомочевина, бензамид и углеводы: глюкоза, сорбит, фруктоза, мальтоза, сахароза).

Все ЭР были приготовлены путем смешивания холина хлорида и доноров водородных связей с 10 % массовой добавкой воды при нагревании до получения однородных жидкостей. Молярные соотношения компонентов и температура изготовления представлены в Таблице 34. ЭР на основе бензойной, галловой, адипиновой кислот, бензамида, тиомочевины и сахарозы

кристаллизовались при комнатной температуре, однако были в жидком состоянии при температуре экстракции 100 °С.

Таблица 34 – Соотношение компонентов в ЭР и условия их изготовления использованных для извлечения металлов из пищевых масел

Акцептор водородной связи	Донор водородной связи	Мольное соотношение	Температура синтеза, °С
Холин хлорид	Лимонная кислота	1:1	100
	Винная кислота	1:1	100
	Щавелевая кислота	1:1	100
	Бензойная кислота	1:1	100
	Малоновая кислота	1:1	150
	Уксусная кислота	1:1	50
	Муравьиная кислота	1:1	50
	Яблочная кислота	1:1	100
	Янтарная кислота	1:1	100
	Малеиновая кислота	1:1	100
	Адипиновая кислота	1:1	100
	Борная кислота	1:1	100
	Аскорбиновая кислота	2:1	100
	Молочная кислота	1:1	100
	Миндальная кислота	1:1	100
	Галловая кислота	1:1	100
	Глицерин	1:2	50
	Этиленгликоль	1:2	50
	Циклогексанол	1:2	50
	1,4-бутандиол	1:2	50
	Триэтиленгликоль	1:2	50
	Мочевина	1:2	50
	Тиомочевина	1:2	50
	Бензамид	1:2	50
	Глюкоза	1:1	50
	Сорбит	1:1	50
	Фруктоза	1:1	50
	Мальтоза	1:1	50
Сахароза	1:1	50	

Для извлечения металлов с использованием изготовленных ЭР пробу масла (50 мг/кг всех металлов) смешивали с ЭР в стеклянном флаконе при температуре 100 °С в течение 30 мин. После этого смесь центрифугировалась в течение 10 мин при 6000 об/мин, нижнюю фазу ЭР отбирали и разбавляли в 100 раз водой. Полученный раствор анализировали методом ИСП-ОЭС.

Было обнаружено существенное влияние донора водородной связи на степени извлечения металлов из неполярной матрицы. Полученные результаты представлены в Таблице 35.

Таблица 35 – Влияние донора водородных связей в составе эвтектического растворителя на основе хлорида холина на степень извлечения (%) металлов из минерального масла (n = 3, P = 0,95, во всех случаях ОСОК находился в диапазоне от 3 до 7%)

Донор водородной связи		Однозарядные ионы металлов				Двухзарядные ионы металлов				Трёхзарядные ионы металлов				Четырёхзарядные ионы металлов				Пятизарядные ионы металлов			
		Na	K	Ag	Ba	Ca	Mg	Co	Cu	Fe	Mn	Sn	Ni	Pb	Zn	Al	B	Cr	Mo	Ti	V
Кислоты	Молочная	98,3	98,3	19,4	87,2	103	97	91,4	96,3	92,3	96,3	78,3	81,5	77,3	95,3	100,3	105,1	8,5	77,3	75,3	73,3
	Винная	100,3	99,4	12,3	70,3	90,9	98,5	99,3	95,4	97,4	100,3	85,1	87,4	81,6	100,3	68,8	91,3	3,6	75,6	78,9	75,6
	Лимонная	95,4	90,9	10,4	35,3	85,3	92,3	95,3	98,5	91,3	100,3	77,3	88,9	31,8	100,4	76,3	95	13	41,4	84,3	62,7
	Миндальная	109,3	77,5	12,4	41,5	98,8	69,4	78,7	82,6	80,4	75,4	49,1	69,9	43,9	72,7	101,7	101,1	7,6	45,8	66,4	58,6
	Галловая	100,3	89,4	11,4	41,4	91	86,3	89,3	106,3	50,5	95,3	47,8	84,4	12,7	100,4	30,8	97,3	1,4	22,6	38,8	41,3
	Малоновая	86,9	74,3	5,5	31,5	37,4	59,8	80,5	82,4	81,5	75,4	47,5	62,6	49,8	77,3	77,4	96,3	2,9	40,4	54,8	48,9
	Щавелевая	91,3	73,5	23,4	12,3	36,8	71,7	97,3	91,3	96,3	78,4	67,5	76,9	13,7	100,5	18,5	99,3	4,5	20,3	63,6	36,9
	Бензойная	100,3	103,3	11,4	54,3	106	100,3	108,3	58,7	1,4	100,3	<1	98,2	12,9	100,4	12,3	95,3	<1	62,4	0,3	66,8
	Яблочная	106,3	52,8	16,9	25,6	96,3	61,4	65,4	86,4	77,6	77,4	43,4	34,8	14,4	84,6	13,4	62,4	2,7	11,3	36,7	41,3
	Муравьиная	90,3	83,3	13,5	33,5	60,4	74,6	80,3	84,5	51,9	79,4	6,6	58,3	18,3	60,6	51,5	98,3	2,4	10,3	5,7	43,8
	Адипиновая	83,8	86,3	14,9	35,4	72,2	50,4	86,4	84,8	6,6	88,4	<1	42,7	<1	88,3	2,3	93,3	13,3	14,5	0,5	35,5
	Аскорбиновая	72,3	76,4	8,9	33,3	20,4	13,2	79,3	85,6	50,9	81,3	39,3	19	14,6	80,3	5,3	90,9	<1	28,4	5,3	29,4
	Уксусная	96,9	84,8	18,3	27,6	60,5	31,3	83,3	91,4	5,8	87,7	7,9	19,4	<1	83,6	1,7	94,3	3,7	11,5	1,5	25,4
	Янтарная	100,3	73,4	12,18	25,4	91,4	22,3	55,8	89,5	11,8	74,5	<1	24,4	<1	78,7	10,8	98,3	0,7	5,4	0,7	20,9
	Малеиновая	84,6	55,7	14,6	20,5	67,4	25,6	46,4	86,8	23,3	67,8	12,3	17,9	7,3	77,3	5,3	72,8	0,8	7,3	8,5	24,9
Борная	90,8	57,4	2,6	16,9	43,3	27,3	16,4	8,3	0,4	24,3	3,3	4,6	13,8	17,9	3,3	–	0,3	20,3	0,4	13,7	

Продолжение таблицы

Донор водородной связи		Однозарядные ионы металлов				Двухзарядные ионы металлов				Трёхзарядные ионы металлов				Четырёхзарядные ионы металлов				Пятизарядные ионы металлов			
		Na	K	Ag	Ba	Ca	Mg	Co	Cu	Fe	Mn	Sn	Ni	Pb	Zn	Al	B	Cr	Mo	Ti	V
Полиолы	Триэтиленгликоль	100,3	86,3	29,6	25,9	102,3	80,7	20,3	20,6	1,5	23,9	<1	13,4	<1	28,6	<1	100,3	<1	27,8	<1	40,4
	Этиленгликоль	93,8	76,8	13,4	21,3	63,3	34,9	41,3	13,8	0,6	32,5	<1	12,7	<1	44,8	<1	104,3	<1	49,5	<1	38,8
	Циклогексанол	86,9	64,3	12,3	16,4	74,6	35,3	66,4	19,3	0,4	51,6	<1	12,7	<1	63,4	<1	68,5	<1	25,3	<1	28,8
	1,4-бутандиол	53,8	72,5	17,9	13,7	27,5	29,4	38,5	19,9	0,3	36,3	<1	7,3	<1	48,6	<1	103,7	<1	18,3	<1	37,3
	Глицерин	86,2	79,4	4,4	11,8	41,5	25,9	22,7	5,4	0,4	19,4	<1	6,4	<1	64,6	<1	100,3	<1	5,9	<1	11,9
Мочевина и	Тиомочевина	96,9	87,4	1,4	26,6	56,4	54,6	17,5	88,4	0,6	15,3	<1	8,3	<1	76,6	<1	109,3	<1	25,3	<1	15,3
	Бензамид	98,3	93,6	3,3	21,4	60,3	87,4	15,6	2,5	0,4	22,4	<1	7,9	<1	27,7	<1	100,3	<1	41,7	<1	53,7
	Мочевина	101,3	85,3	2,4	15,6	52,8	51,8	18,5	7,5	0,5	22,8	<1	4,3	<1	33,5	<1	109,5	<1	49,7	<1	39,3
Сахара	Фруктоза	96,3	98,5	9,6	47,4	100,3	83,5	59,3	104,3	27,3	57,3	7,4	29,4	20,4	77,3	1,7	100,4	<1	61,8	0,4	22,3
	Мальтоза	99,3	92,5	2,3	29,4	100,3	96,4	28,5	86,3	6,3	26,6	28,5	14,8	<1	38,4	<1	101,3	<1	13,9	1,5	20,6
	Сахароза	89,3	85,3	1,4	20,3	81,4	45,5	64,8	89,9	6,5	55,4	9,9	11,3	<1	63,7	0,3	99,3	<1	14,9	0,5	14,3
	Глюкоза	98,3	99,3	2,3	31,4	87,3	82,4	12,3	27,3	0,4	20,4	<1	7,9	<1	34,4	<1	98,4	<1	25,7	0,4	37,8
	Сорбит	97,3	83,5	7,9	25,6	63,2	46,7	33,3	31,4	0,3	35,8	<1	7,2	<1	39,6	<1	98,9	<1	30,4	3,4	48,3

В случае извлечения однозарядных элементов, таких как натрий и калий, все исследованные эвтектические растворители показали высокую степень извлечения. Это обеспечивается растворением данных ионов в фазе эвтектического растворителя за счет гидратации, что вызывает их извлечение из фазы образца. Среди всех изученных эвтектических растворителей, ЭР на основе карбоновых кислот показали наивысшую степень извлечения многозарядных металлов. Они превзошли другие ЭР на основе сахаров, мочевины и её производных, а также спиртов. Среди всех изученных кислот, молочная, лимонная, винная и яблочная кислоты показали наилучшие степени извлечения для большинства металлов. Миндальная и галловая кислоты также обеспечили эффективную экстракцию многих многозарядных элементов. Все эти кислоты имеют карбоксильные и гидроксильные группы в своем составе, что может быть причиной образования устойчивых комплексов с металлами в фазе ЭР. ЭР на основе щавелевой кислоты, как и ожидалось, показал низкую степень извлечения для кальция, магния, бария и свинца из-за образования малорастворимых оксалатов, потеря которых может наблюдаться на стадии центрифугирования смеси. Борная, уксусная и муравьиная кислоты обеспечили низкую степень извлечения многозарядных металлов из-за отсутствия процесса комплексообразования металлов. Таким образом, ЭР на основе хлорида холина и кислот можно использовать для одновременного извлечения однозарядных и многозарядных металлов из пробы масла. Среди всех изученных ЭР наибольшую степень извлечения для всех исследованных металлов обеспечивал ЭР на основе молочной кислоты, что может быть связано как с его низкой вязкостью, так и с образованием растворимых лактатов металлов. Данный ЭР был использован для дальнейших исследований.

Как было показано в 3 главе данного исследования, содержание воды в фазе ЭР на основе кислоты может существенно влиять на его физические свойства. В этом исследовании было изучено влияние воды на степень извлечения металлов. С одной стороны, добавление воды в фазу ЭР может уменьшить вязкость данной фазы и увеличить ее полярность, что может

повысить растворимость в ней катионов и полученных комплексов металлов с молочной кислотой. С другой стороны, высокое содержание воды может способствовать разрушению ЭР с образованием водных растворов прекурсоров, что снизит концентрацию лигандов. Содержание воды в фазе ЭР на основе хлорида холина и молочной кислоты варьировалась от 10 до 30 массовых %. Более высокое содержание воды не изучалось, поскольку при концентрации выше 30 % вязкость ЭР существенно не уменьшалась. ЭР и раствор металлов (50 мг/кг) в минеральном масле смешивали в объемном соотношении 1/1 в течение 30 мин. при 80 °С. После разделения фаз ЭР разбавляли в 100 раз водой и анализировали методом ИСП-ОЭС. Как видно из полученных данных (Рисунок 74), добавление воды увеличивало степень извлечения большинства металлов, что может быть вызвано как снижением вязкости, так и повышением полярности фазы ЭР. Однако влияние воды на процессы экстракции каждого металла необходимо изучать более детально и индивидуально. Таким образом, в данной работе ЭР на основе молочной кислоты, содержащий 30 % воды, был выбран для дальнейших исследований.

Для достижения наибольшего коэффициента концентрирования массу экстрагента фиксировали на уровне 0,50 г, а массу образца варьировали от 1 до 10 г. Было установлено, что при увеличении массы образца свыше 5,00 г (соотношение 1/10 ЭР/проба) степень извлечения уменьшается из-за насыщения фазы экстрагента металлами. Таким образом, масса образца 5,00 г была выбрана оптимальной (Рисунок 74).

Поскольку и фаза ЭР, и фаза пробы являются достаточно вязкими, процесс массопереноса в данном случае имеет медленную кинетику. Влияние температуры и времени перемешивания на значения степени извлечения были изучены для уменьшения времени экстракции. Для этого фазы ЭР и масла перемешивали в течение 30 мин на магнитной мешалке, а температура нагревания варьировалась от 50 до 80 °С. Было установлено, что повышение температуры больше 60 °С не приводит к существенному увеличению степени извлечения. (Рисунок 74). При этой температуре время перемешивания

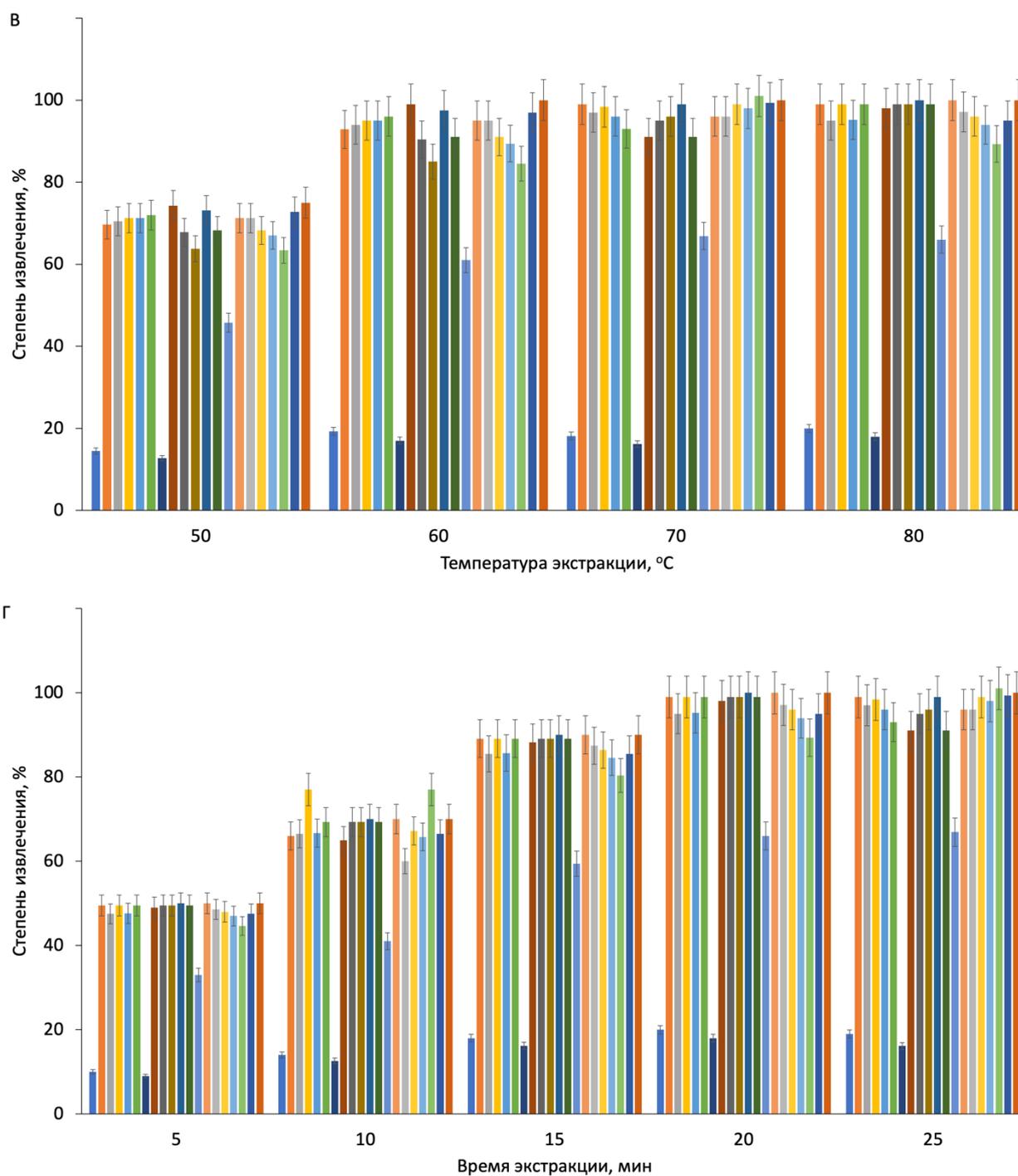


Рисунок 74 – Оптимизация условий для выделения металлов из образцов масла в трехкомпонентный ЭР на основе хлорида холина, молочной кислоты и воды ($n=3$, С металлов 50 мг/кг). (А) Влияние концентрации воды в составе ЭР на степень извлечения металлов (масса ЭР 1,00 г, масса пробы 1,00 г, время экстракции 30 мин, температура 80 °С); (Б) Влияние массы пробы на степень извлечения металлов (ЭР на основе хлорида холина, молочной кислоты и воды в мольном соотношении 1,0/1,0/5,5, масса ЭР 0,50 г, время экстракции 30 мин, температура 80 °С); (В) Влияние температуры на степень извлечения металлов (ЭР на основе хлорида холина, молочной кислоты и воды в мольном соотношении 1,0/1,0/5,5, масса ЭР 0,50 г, масса образца 5,00 г, время перемешивания 30 мин); (Г) Влияние времени перемешивания на степень извлечения металлов (ЭР на основе хлорида холина, молочной кислоты и воды в молярном соотношении 1,0/1,0/5,5, масса ЭР 0,50 г, масса образца 5,00 г, температура 60 °С)

Результаты валидации разработанного способа представлены в Таблице 36. Градуировочные зависимости были построены с использованием ГСО состава раствора металлов в минеральном масле (СМН-ПА). Растворы для градуировки проводили через все стадии пробоподготовки. Пределы обнаружения (3σ) и определения (10σ) составили 0,03-17 мг/кг и 0,1-50 мг/кг соответственно. Степень извлечения варьировалась от 20 до 99 %. Для оценки прецизионности рассчитывали ОСКО. Значения ОСКО в условиях повторяемости и внутрилабораторной воспроизводимости составили 2,12-4,6 и 3,6-8,8 % соответственно. Полученные результаты были опубликованы в работе [297].

Способ был применен для определения содержания металлов в пробе пищевого масла (Таблица 37). Правильность результатов подтверждали методом сравнением с результатами, полученными независимым способом методом ИСП-ОЭС с предварительным разложением образцов методом микроволнового разложения. Концентрации металлов, найденные с помощью разработанной процедуры и процедуры, включающей микроволновое разложение, показаны в Таблице 37. Как видно из Таблицы 37, результаты анализа хорошо согласуются с результатами, полученными по независимой процедуре. Значения $F \leq 19,00$ указывают на незначительную разницу в точности между обеими процедурами на уровне доверия 95%. Значения $t \leq 2,78$ указывают на незначительную разницу между результатами, полученными с использованием этих процедур ($n = 3$).

Таблица 36 – Аналитические характеристики разработанной процедуры определения металлов в пищевых маслах

Элемент	ДОК, мг/кг	R ²	Предел определения, мг/кг	Предел обнаружения, мг/кг	Степень извлечения, %	Повторяемость (СКО, С = 50 мг/кг, n = 10), %	Внутрилабораторная воспроизводимость (СКО, С = 50 мг/кг, n = 10), %
Ag	0,1-100	0,998	0,03	0,1	35	2,12	5,12
Al	0,2-100	0,998	0,06	0,2	88	4,21	6,5
B	0,3-150	0,999	0,1	0,3	100	3,8	5,12
Ba	0,6-300	0,997	0,2	0,6	99	3,13	4,21
Ca	5-1500	0,998	1,7	5	99	4,23	4,8
Co	1-150	0,997	0,3	1	98	4,7	6,14
Cr	10-100	0,999	3	10	20	4,21	6,9
Cu	0,9-300	0,996	0,3	0,9	94	4,14	5,4
Fe	2-1000	0,996	0,7	2	97	3,6	4,7
K	5-1500	0,998	17	50	100	2,9	3,22
Mg	2-1500	0,998	7	20	100	2,5	3,6
Mn	0,2-500	0,996	0,2	0,5	96	4,3	6,9
Mo	1-100	0,995	0,3	1	77	4,5	8,8
Na	5-1500	0,998	17	50	100	3,3	4,13
Ni	1-300	0,997	0,3	1	98	4,5	5,4
Pb	0,5-200	0,996	0,2	0,5	97	4,6	7,8
Sn	1-100	0,997	0,3	1	93	4,13	6,12
Ti	0,1-100	0,998	0,03	0,1	96	4,5	5,7
V	0,5-100	0,995	0,2	0,5	94	4,4	5,4
Zn	0,5-200	0,996	0,2	0,5	100	3,4	4,22

Таблица 37 – Результаты определения металлов в пищевом масле (n = 3, P = 0,95, F = 19,00, t = 2,78)

Образец	Элемент	Найдено (разработанная процедура), мг/кг	Найдено (независимая процедура), мг/кг	F-тест	t-тест
Подсолнечное масло	Ag	<ПО	<ПО	–	–
	Al	<ПО	<ПО	–	–
	B	<ПО	<ПО	–	–
	Ba	<ПО	<ПО	–	–
	Ca	14,3 ± 0,5	12,3 ± 0,4	5,12	1,12
	Co	<ПО	<ПО	–	–
	Cr	<ПО	<ПО	–	–
	Cu	2,6 ± 0,3	2,7 ± 0,3	6,19	1,3
	Fe	8,3 ± 0,3	8,6 ± 0,3	4,31	1,7
	K	19,3 ± 0,5	23,5 ± 0,4	3,15	0,6
	Mg	22,3 ± 0,4	25,3 ± 0,5	4,36	0,8
	Mn	6,3 ± 0,3	5,8 ± 0,3	9,21	0,7
	Mo	<ПО	<ПО	–	–
	Na	10,3 ± 0,3	12,4 ± 0,4	7,23	0,7
	Ni	<ПО	<ПО	–	–
	Pb	<ПО	<ПО	–	–
	Sn	<ПО	<ПО	–	–
	Ti	<ПО	<ПО	–	–
	V	<ПО	<ПО	–	–
Zn	2,3 ± 0,3	2,2 ± 0,3	4,13	0,4	

Таким образом, в данной работе впервые было детально исследовано влияние природы донора водородной связи в составе ЭР на извлечение металлов из неполярных сложных матриц. Было показано, что кислоты (лимонная, винная, щавелевая, бензойная, малоновая, уксусная, муравьиная, яблочная, янтарная, малеиновая, адипиновая, борная, аскорбиновая, молочная, миндальная, галловая кислоты) в качестве компонентов ЭР обеспечивают наибольшую степень извлечения большинства изученных металлов. Это обусловлено возможностью образования солей этих металлов в фазе ЭР в случае карбоновых кислот и образованием комплексных соединений в случае гидроксикислот. Был установлен синергетический эффект воды, хлорида холина и молочной кислоты как компонентов ЭР на величину степени извлечения металлов. Было показано, что ЭР на основе хлорида холина, молочной кислоты и воды можно рассматривать как более эффективный из изученных экстрагентов, который обеспечивал извлечение большинства металлов на уровне, сопоставимом с методом микроволновой минерализации. Разработанный способ был использован для определения Ag, Al, B, Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sn, Ti, V и Zn в образцах растительного масла методом ИСП-ОЭС. Разработанная процедура, в отличие от предложенных в литературе, не требует дополнительного оборудования, такого как микроволновая печь, и исключает использование концентрированных кислот окислителей и пероксида водорода для разложения образцов масла, что можно рассматривать как эффективную и безопасную альтернативу существующим процедурам.

Так как в данном исследовании было изучено влияние только донора водородной связи, а также было показано, что присутствие воды оказывает существенное влияние на извлечении металлов, дальнейшее исследование было направлено на более детальное изучение механизма экстракции металлов в фазу ЭР на основе кислот. Для этого была разработана процедура извлечения металлов из твердофазных пищевых продуктов с применением ЭР на основе кислот и было проведено сравнение степени извлечения металлов не только в

ЭР, но и в водные насыщенные растворы холина хлорида и используемых кислот (Рисунок 75).

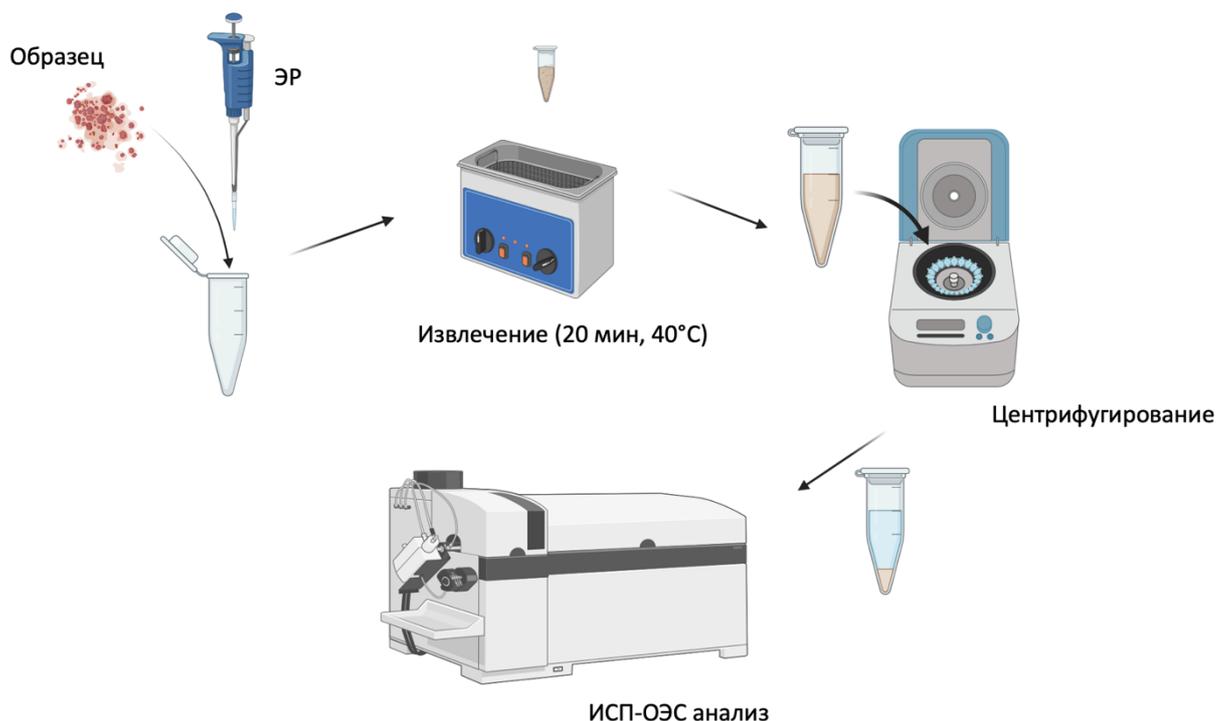


Рисунок 75 – Схема реакционной микроэкстракции металлов из твердофазной пробы в ЭР

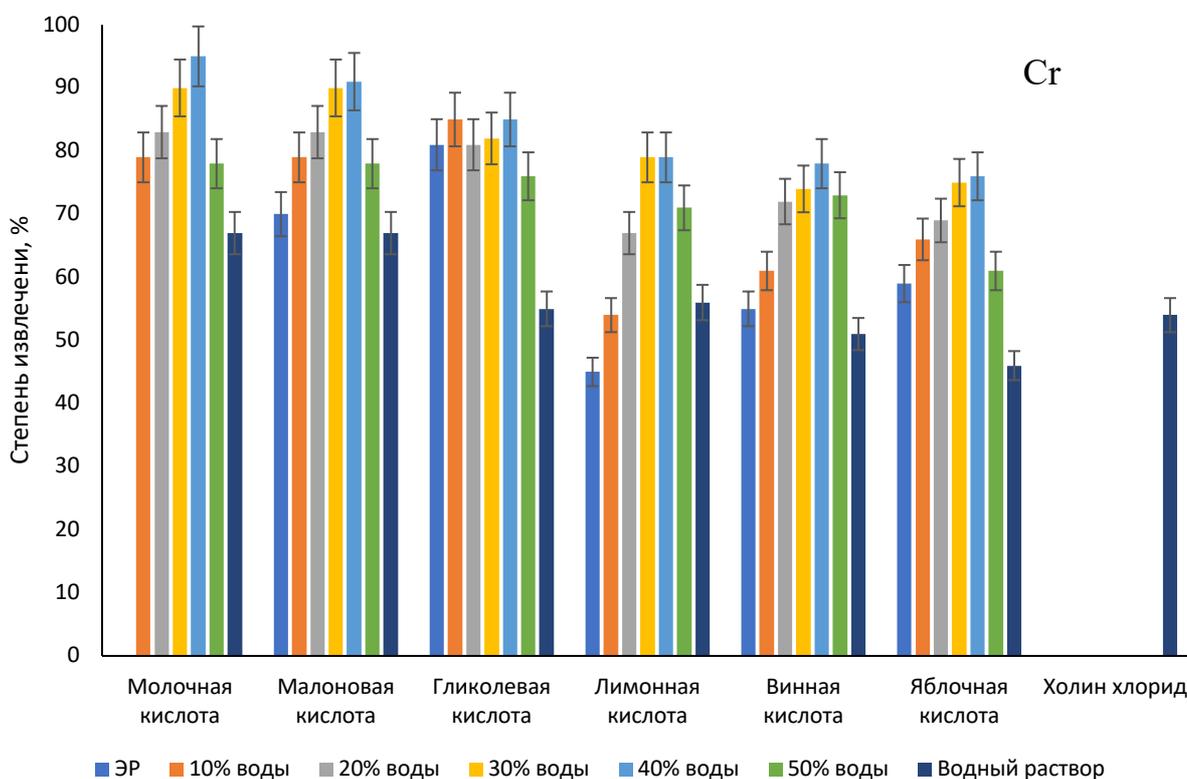
В качестве аналитов были выбраны металлы (Cu, Cd, Co, Cr, Fe, Pb и Zn), содержание которых наиболее часто нормируется в пищевых продуктах, а в качестве объекта анализа – куриное мясо. В качестве экстрагентов использовали ЭР на основе холина хлорида и следующих кислот: молочной, лимонной, винной, гликолевой, малоновой и яблочной, так как они продемонстрировали наибольшую степень извлечения на этапе предварительных исследований. Так как большая часть этих ЭР имеет высокую вязкость, были изучены также трехкомпонентные смеси, состоящие из данных ЭР и воды при ее массовом содержании от 10 % до 50 %. Также в качестве экстрагентов использовали водные насыщенные растворы данных кислот и холина хлорида. В случае молочной кислоты использовали коммерчески доступный 80 % раствор кислоты в воде. Для изучения влияние типа экстрагента на степень извлечения использовали образец куриного мяса

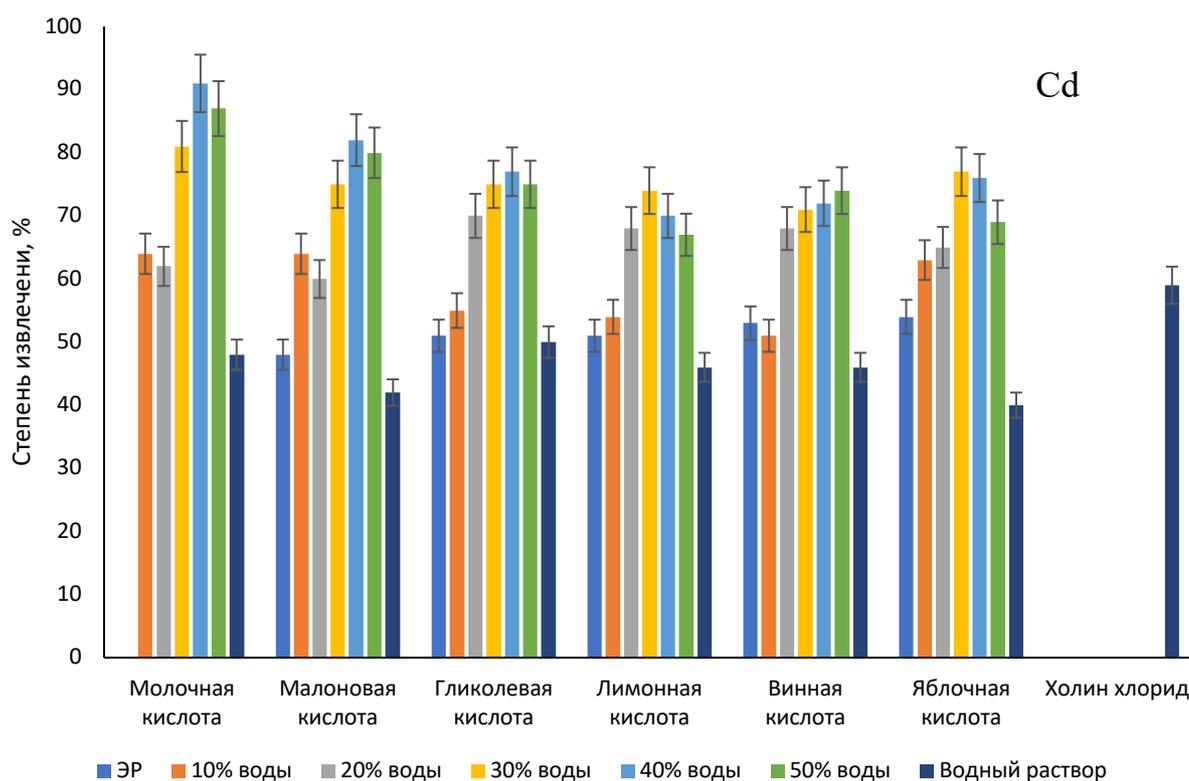
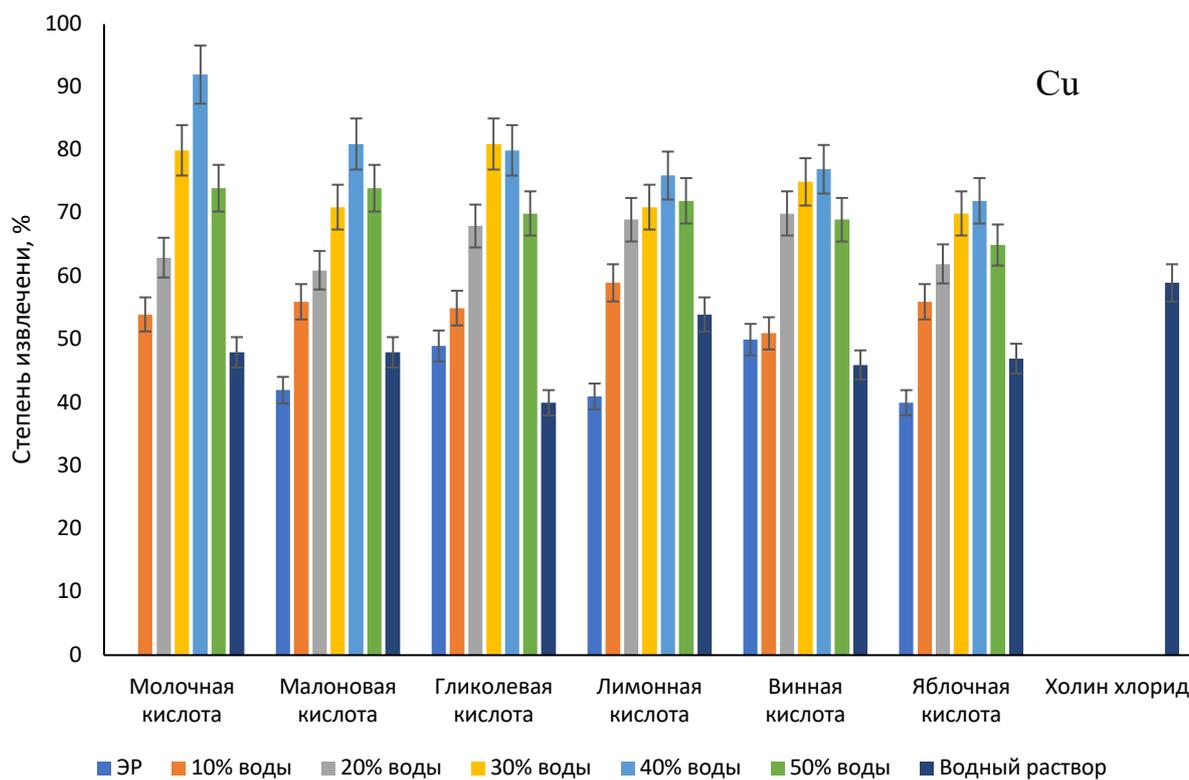
с содержанием металлов 10 мг/кг. В ходе предыдущих исследований было показано, что ЭР на основе хлорида холина и карбоновых кислот способны эффективно извлекать металлы из различных объектов. Предполагалось, что механизм экстракции в случае однозарядных ионов основан на гидратации металлов, а в случае переходных металлов – на образовании комплексов в фазе ЭР. Однако так как за комплексообразование отвечают преимущественно кислоты в составе ЭР, было высказано предположение, что водные растворы данных кислот могут так же эффективно извлекать металлы без необходимости предварительного изготовления ЭР на их основе, что сократит общее время анализа. Однако, с другой стороны, в литературе показано, что ЭР способны обеспечивать трансдермальную доставку лекарств и, следовательно, способны эффективно проникать в ткани, что может быть причиной их эффективного использования для извлечения металлов.

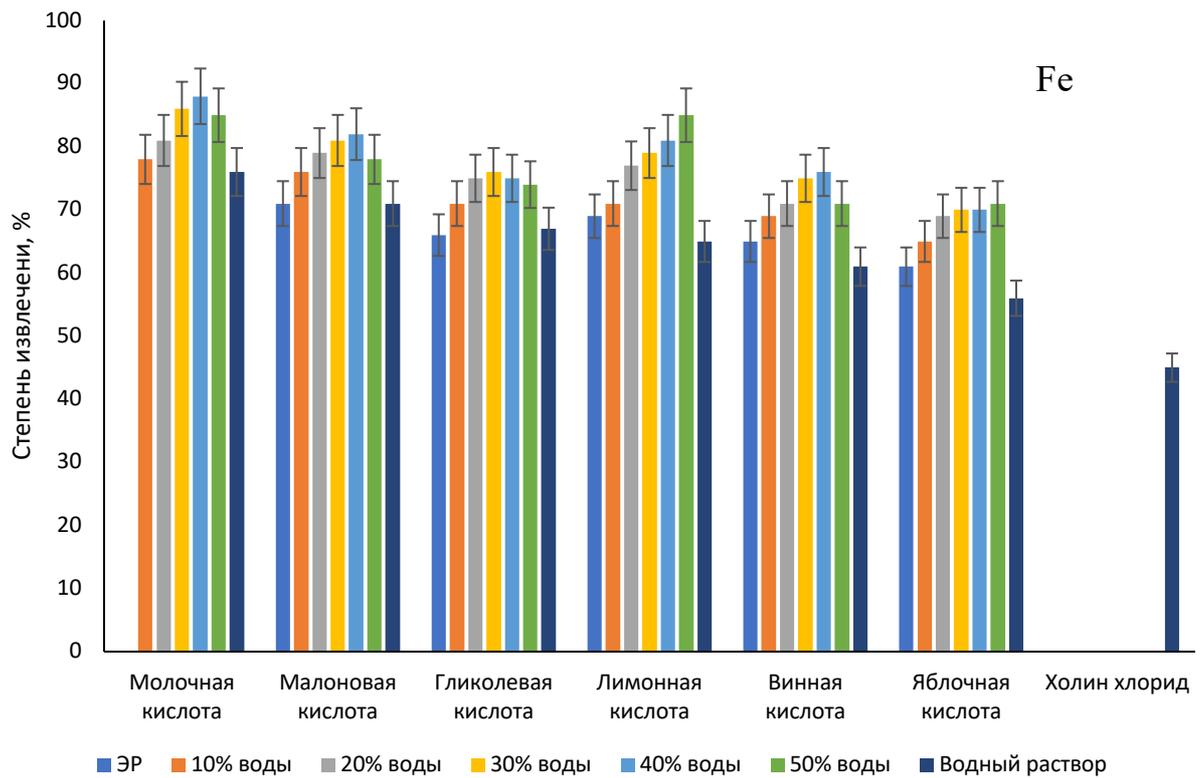
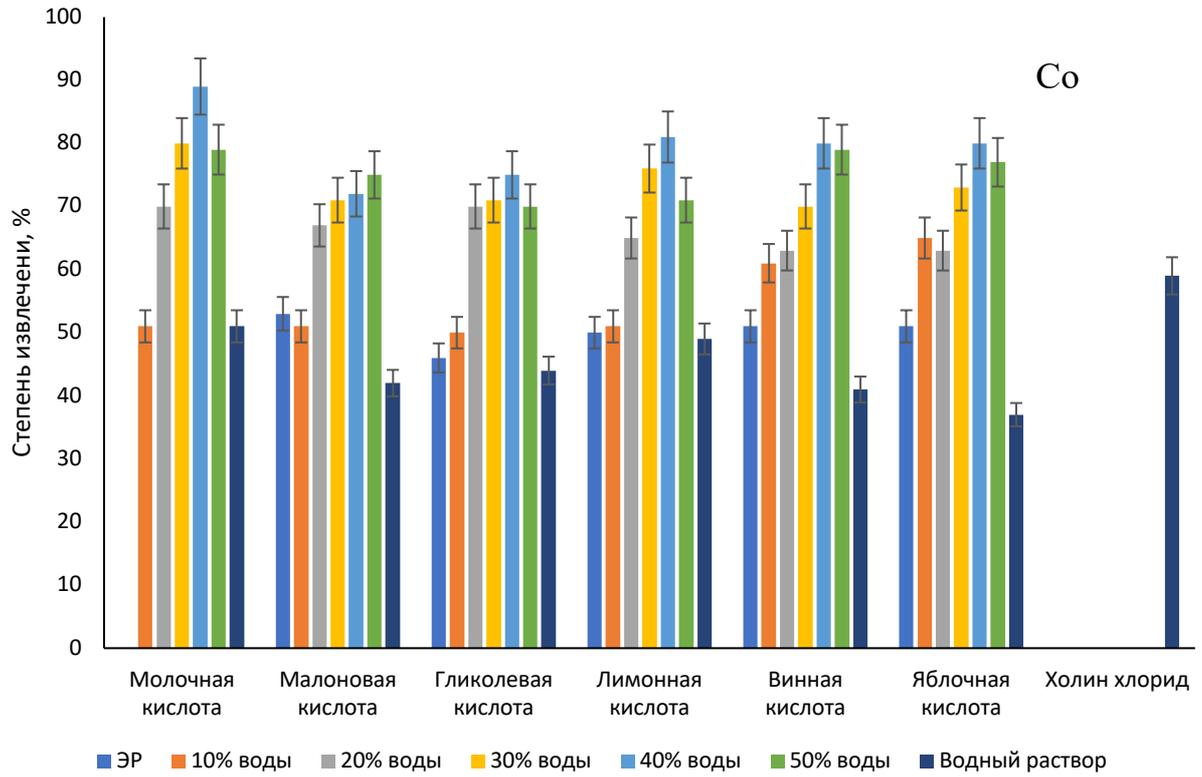
Для изучения механизма экстракции согласно предложенной процедуре 100 мг пробы помещали в 2 мл полимерный эппендорф и добавляли 1 г соответствующего экстрагента. Образец механически перемешивали иглой шприца для равномерного распределения пробы в объеме ЭР и эппендорф помещали в ультразвуковую ванну. Извлечение металлов проводилось при 60°C в течение 30 мин. Затем смесь центрифугировали в течение 5 мин. при 6000 об/мин, и 500 мкл экстрагента отбирали в новый флакон, добавляли 2 мл раствора азотной кислоты (0,1 моль/л), перемешивали и анализировали методом ИСП-ОЭС.

Было установлено, что все изученные экстрагенты обеспечивали извлечение металлов из пробы. Однако во всех случаях наибольшая степень извлечения наблюдалась при использовании именно эвтектических растворителей по сравнению с водными растворами кислот и холина. Среди всех изученных ЭР, как и в предыдущих исследованиях, ЭР на основе молочной кислоты показал лучшие результаты, что согласуется с данными, представленными ранее в литературе. Также была выявлена закономерность, согласно которой наибольшая степень извлечения металлов наблюдается при

содержании воды на уровне 40-50 массовых % вне зависимости от типа кислоты в составе ЭР (Рисунок 76). Это может быть связано с значительным снижением вязкости растворителей, что положительно влияет на кинетику массопереноса. Также было показано, что насыщенные водные растворы холина и кислот также обладают способностью к извлечению металлов, однако в случае использования данных экстрагентов степени извлечения были меньше, чем при использовании ЭР на их основе. Таким образом, была подтверждена эффективность извлечения металлов именно в эвтектические растворители, и для дальнейших более детальных исследований механизма экстракции использовали ЭР на основе молочной кислоты с содержанием воды 40 %.







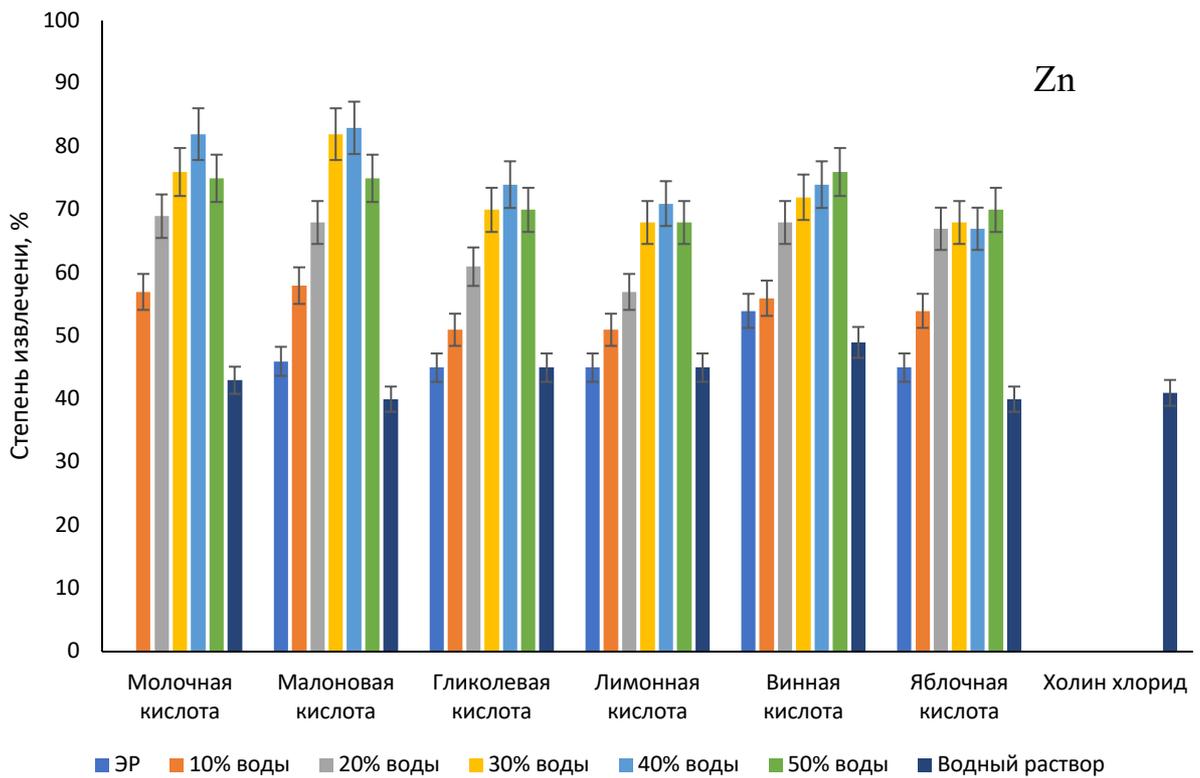
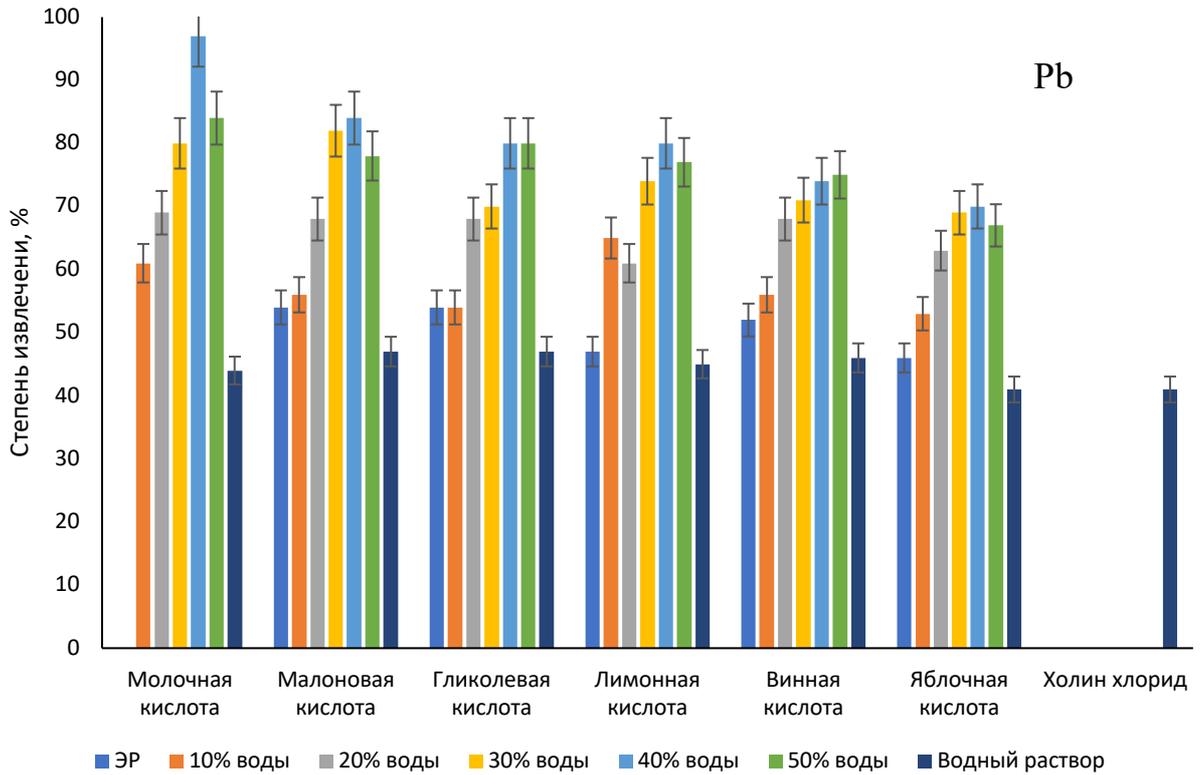
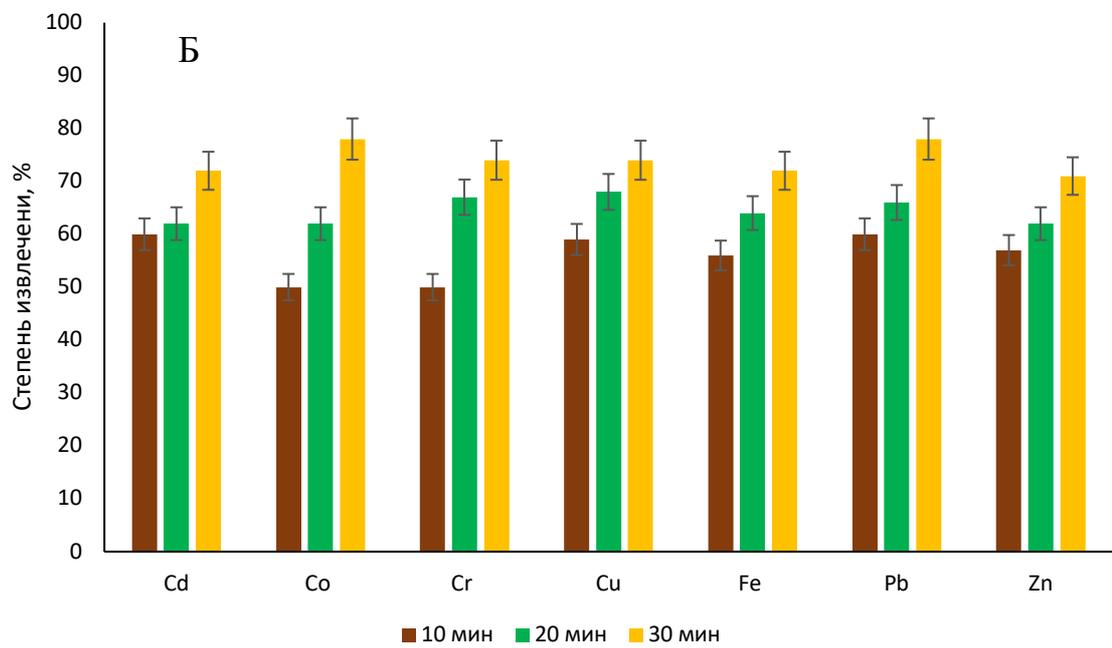
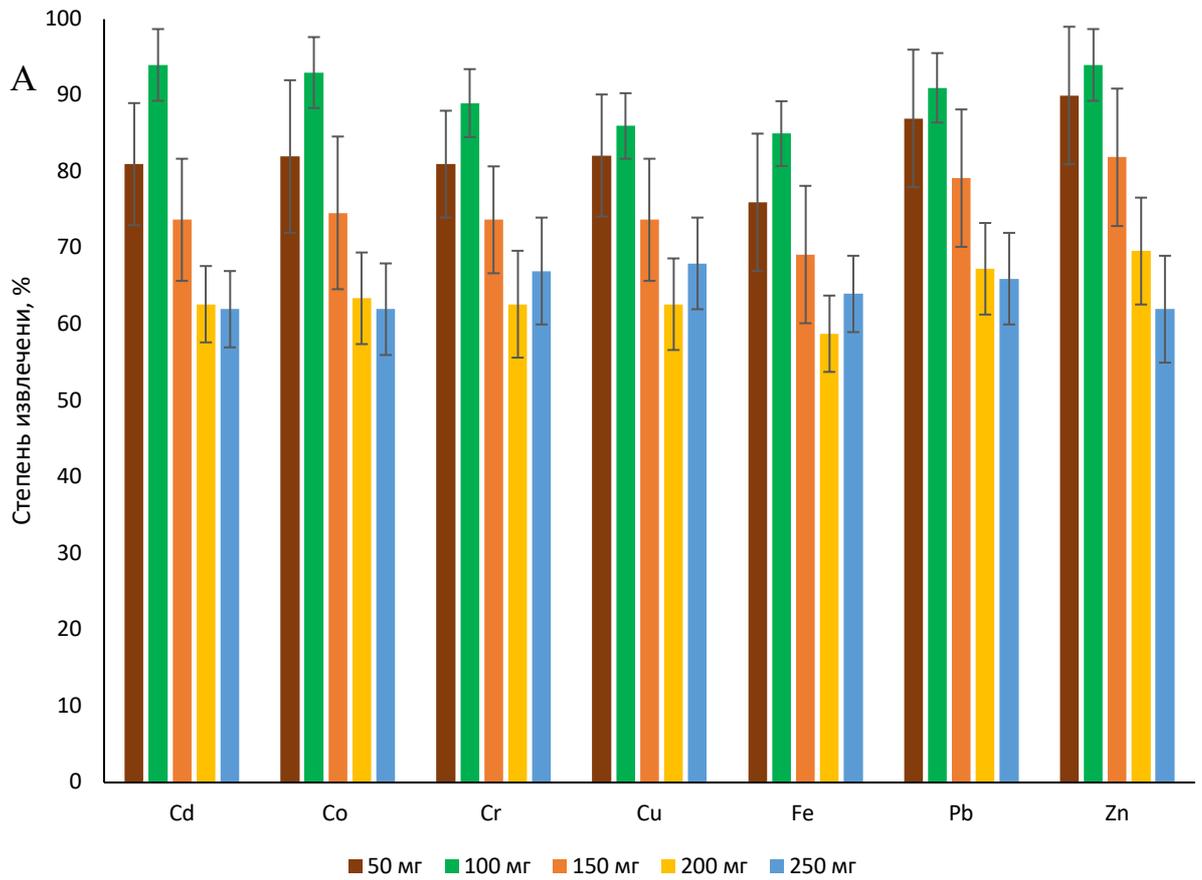


Рисунок 76 – Влияние состава ЭР на степень извлечение металлов из образца куриной ткани (n=3, Содержание металлов 10 мг/кг, масса пробы – 100 мг, масса ЭР – 1 г, время экстракции – 30 мин, температура экстракции – 60 °C)

Для выбора оптимального соотношения пробы и экстрагента масса образца варьировалась от 50 до 250 мг при фиксированной массе экстрагента 1 г. Образец и экстрагент смешивали в эппендорфе, помещали в ультразвуковую ванну на 30 мин при 60 °С, и после процедуры микроэкстракции смесь центрифугировали и 250 мг экстрагента растворяли в азотной кислоте и анализировали методом ИСП-ОЭС. Было установлено, что масса 100 мг обеспечивает как наивысшую степень извлечения аналитов, так и наименьшие значения СКО (Рисунок 77). Большие значения СКО в случае массы образца 50 мг обусловлены нерепрезентативностью образца, а в случае более 100 мг матрица образца сильнее удерживает аналиты, что приводит как к снижению степени извлечения аналитов, так и к увеличению значений СКО. Таким образом, масса образца 100 мг была выбрана в качестве оптимальной.

Температура извлечения металлов варьировалась от 30 до 60 °С с интервалом 10°С, а время экстракции варьировалось от 10 до 30 мин. Было установлено, что для всех металлов 20 мин. при 40°С достаточно для достижения степени извлечения 80–95 %. Таким образом, оптимальные условия микроэкстракции следующие: соотношение проба/экстрагент – 1/10, время экстракции – 20 мин при 40 °С.



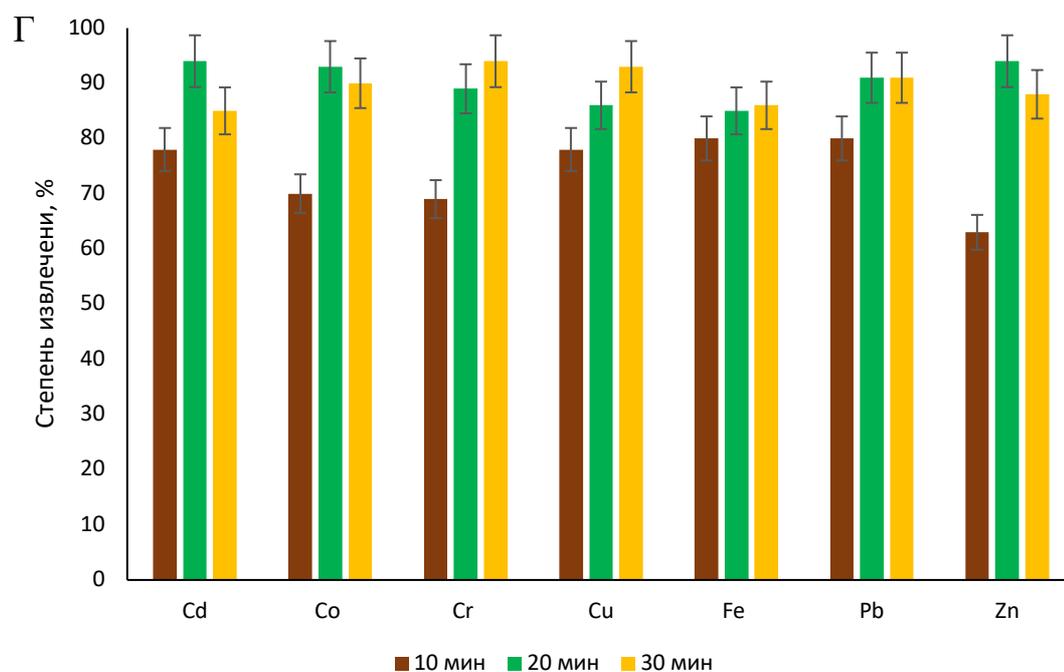
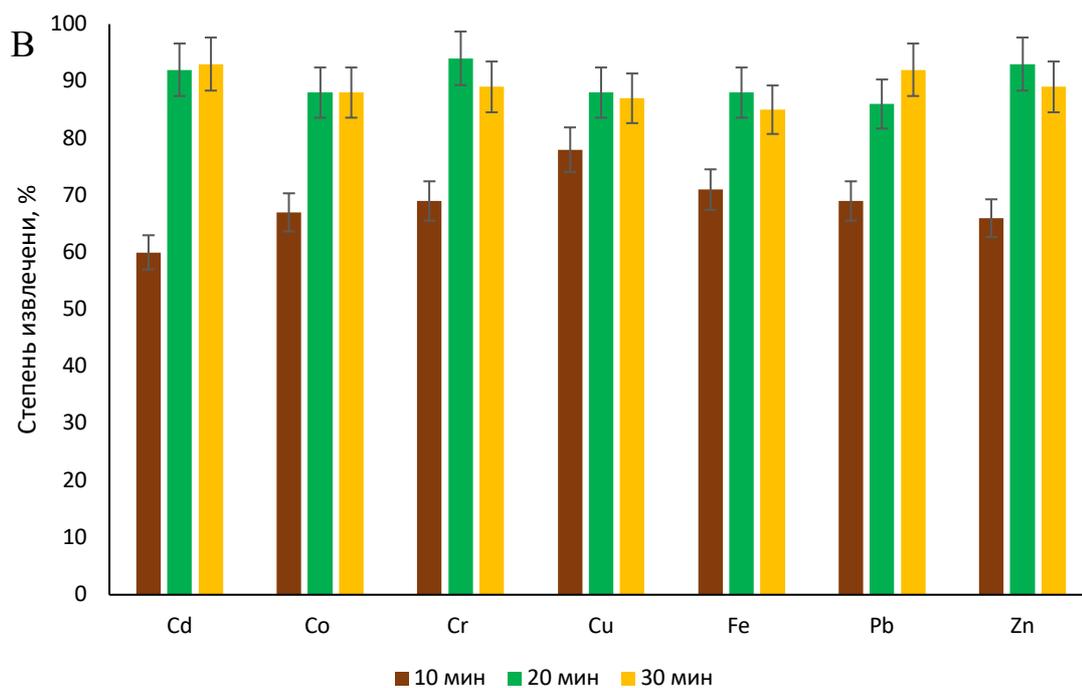


Рисунок 77 – (А) Влияние массы пробы на степень извлечения металлов. Содержание аналитов 10 мг/кг, масса ЭР 1 г, время экстракции 30 мин., температура экстракции 60 °С. Влияние времени извлечения аналитов на степень извлечения при (Б) 30°С, (В) 40°С, (Г) 50°С, n=3

Поскольку экспериментально было показано, что степень извлечения выше при использовании эвтектических растворителей, было необходимо более детально изучить механизм экстракции. Для лучшего понимания этого

процесса были изучены физические и химические свойства полученных экстрагентов и проведено математическое моделирование данных процессов.

Такие свойства, как плотность, вязкость и рН экстрагентов, могут существенно влиять на процессы экстракции. Было обнаружено, что плотность и вязкость у ЭР и насыщенных водных растворов данных кислот сопоставимы, что скорее всего не может привести к существенной разнице в степени извлечения металлов при использовании данных экстрагентов.

Также измеряли рН экстрагентов (Таблица 38). Для этого измеряли рН насыщенных водных растворов кислот и рН трехкомпонентных эвтектических растворителей с содержанием воды 40 %. Было установлено, что несмотря на то, что в случае водных растворов абсолютная концентрация кислот была выше, чем в случае эвтектических растворителей, рН полученного раствора в случае ЭР был ниже во всех случаях. Это приводит к тому, что концентрация свободных ионов водорода в случае ЭР выше, чем в случае водных растворов кислот. В этом случае большая степень извлечения металлов с использованием ЭР может быть объяснена более кислой природой этих экстрагентов. Это связано с тем, что более кислые ЭР могут быть более эффективными в разрушении матрицы пищевого продукта, что приводит к более эффективному извлечению металлов и их растворению в фазе экстрагента.

Таблица 38 – Свойства насыщенных водных растворов кислот и ЭР на их основе (40 % воды) при 25 °С

Кислота	Плотность, г/см ³		Вязкость, мПа с		рН	
	ЭР	Водный раствор	ЭР	Водный раствор	ЭР	Водный раствор
Молочная	1,104	1,192	6,75	26,69	0,65	0,95
Малоновая	1,140	1,245	5,94	4,79	0,11	0,46
Гликолевая	1,117	1,266	4,99	8,05	0,25	0,91
Лимонная	1,189	1,294	11,27	15,89	0,17	0,81
Винная	1,190	1,306	10,09	11,38	0,14	0,71
Яблочная	1,163	1,242	7,49	7,99	0,21	0,86

Также в фазе ЭР, в отличие от водного раствора кислот, присутствует хлорид холина, который исследователи часто упускают из виду при исследовании влияния природы ЭР на экстракцию металлов, поскольку чаще всего изучается только влияние донора водородной связи на степень извлечения металлов. Однако было показано, что водный раствор холина также может достаточно эффективно извлекать металлы. Предполагается, что это может быть связано с дополнительным эффектом образования хлоридных комплексов металлов в фазе экстрагента, например, образованием хлорокупратов в случае меди. Для лучшего понимания процесса экстракции были получены спектры в видимой области для водного раствора Cu^{2+} , раствора Cu^{2+} в насыщенном растворе молочной кислоты, в насыщенном растворе хлорида холина и в фазе ЭР (хлорид холина/молочная кислота/вода). Из полученных данных (Рисунок 78) видно, что в случае водного раствора и раствора молочной кислоты наблюдается широкая полоса в области 700–900 нм, соответствующая аквакомплексам Cu^{2+} и лактатам меди. В случае насыщенного раствора хлорида холина эта полоса уменьшается, и появляется значительная полоса в области 500–600 нм, соответствующая хлоридному комплексу меди $[\text{CuCl}_4]^{2-}$. В случае эвтектического растворителя полоса, отвечающая за хлоридные комплексы, также присутствует, а также наблюдается полоса в области 700–900 нм. Таким образом, в случае эвтектического растворителя можно предположить наличие смешанных комплексов меди, в состав которых входят как хлорид-ионы, молочная кислота, так и, вероятно, молекулы воды. Это подтверждает предположение о дополнительном вкладе хлорида холина в процесс экстракции металлов в фазу эвтектического растворителя по сравнению с насыщенным водным раствором кислот. Можно сделать вывод, что эвтектические растворители более эффективны по сравнению с водными растворами кислот в аспекте экстракции металлов из пищевых продуктов из-за их большей кислотности, что увеличивает эффективность разрушения матрицы образца, и за счет

дополнительного эффекта хлорида холина из-за образования смешанных хлоридных комплексов.

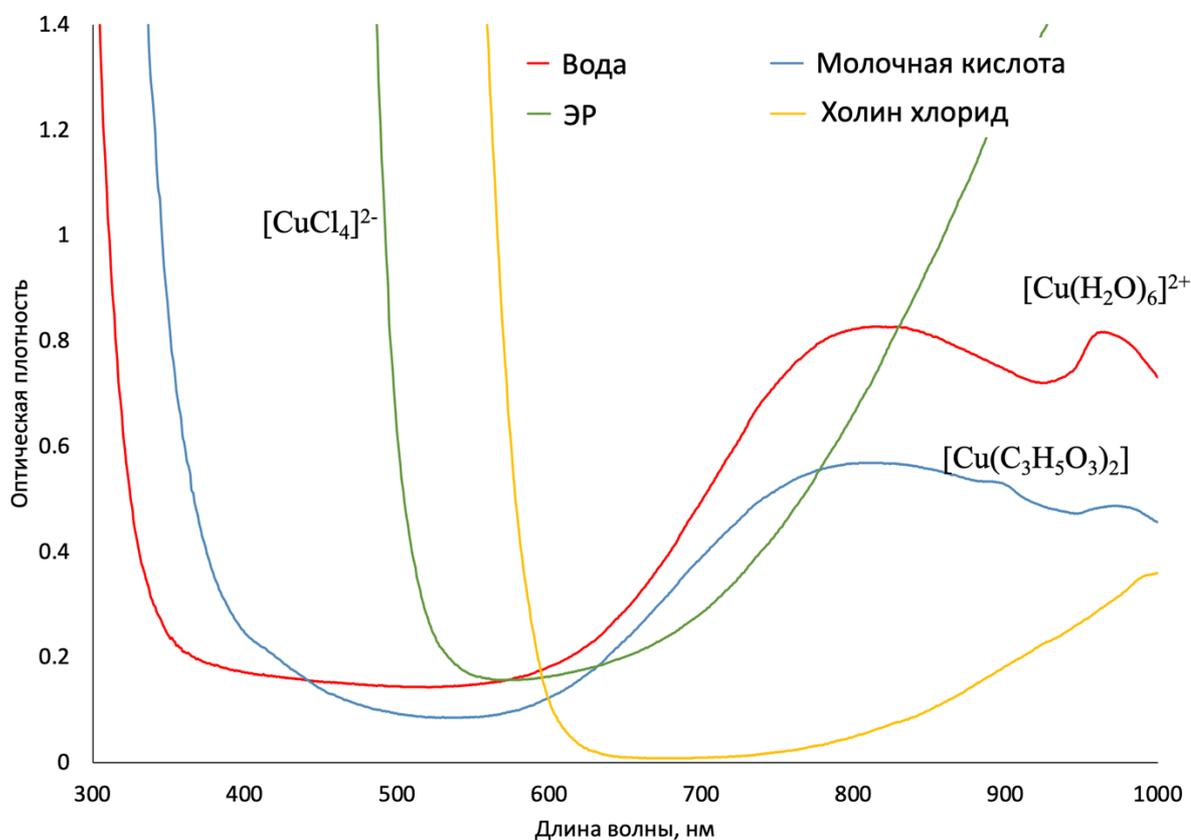


Рисунок 78 – Спектры поглощения Cu^{2+} в водном растворе, водном растворе молочной кислоты, водном насыщенном растворе хлорида холина и в эвтектическом растворителе (хлорид холина, молочная кислота, вода) (содержание меди 100 мг/л)

Для подтверждения данной гипотезы были произведены расчеты методом DFT, которые демонстрируют, что молекулы молочной кислоты и анионы Cl^- положительно влияют на степень извлечения катионов Cu^{2+} с точки зрения термодинамики (Таблица 39). Предполагаем, аналогичные процессы протекают в случае остальных металлов.

Таблица 39 – Рассчитанные значения изменения полной энергии и свободной энергии Гиббса для модельных процессов (ΔE и ΔG , в ккал/моль)

Моделируемый процесс	ΔE	ΔG
$\text{Cu}^{2+} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Cu}^{2+} \cdots \text{H}_2\text{O}$	-105,4	-96,5
$\text{Cu}^{2+} + \text{H}_2\text{O} + \text{молочная кислота} \rightarrow \text{молочная кислота} \cdots \text{Cu}^{2+} \cdots \text{H}_2\text{O}$	-296,5	-272,8
$\text{Cu}^{2+} + \text{H}_2\text{O} + \text{молочная кислота} + \text{Cl}^- \rightarrow \text{Cl}^- \cdots \text{молочная кислота} \cdots \text{Cu}^{2+} \cdots \text{H}_2\text{O}$	-549,8	-518,5

Результаты валидации разработанного способа представлены в Таблице 40. Градуировочные зависимости для ИСП-ОЭС анализа были построены с использованием сертифицированного стандартного многокомпонентного раствора (1 г/л) (115474 Merck, Германия). ДОК аналитов составил 0,8–150 мг/кг для Cr, Cd, Pb и Zn, 0,65–150 мг/кг для Cu и 0,33–150 мг/кг для Fe и Co с коэффициентом детерминации более 0,995. Масса образца (100 мг) учитывалась для расчета концентрации в единицах мг/кг. Пределы обнаружения (3σ) и определения (10σ) составили от 0,1 до 0,25 мг/кг и от 0,33 до 0,8 мг/кг соответственно. Степень извлечения аналитов составила 85-95 %. Для оценки прецизионности рассчитывали ОСКО. Значения ОСКО в условиях повторяемости и внутрилабораторной воспроизводимости составили 5-7 % и 7-10 % соответственно. Полученные результаты были опубликованы в работе [298].

Таблица 40 – Аналитические характеристики разработанного способа определения металлов в твердофазных мясных пищевых продуктах

Параметр	Cr	Cu	Cd	Co	Fe	Pb	Zn
Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	0,8-150	0,65-150	0,8-150	0,33-150	0,33-150	0,8-150	0,8-150
R ²	0,995	0,997	0,996	0,997	0,996	0,995	0,995
Предел обнаружения (3σ), мг/кг (мг/л)	0,25 (0,005)	0,2 (0,004)	0,25 (0,005)	0,1 (0,002)	0,1 (0,002)	0,25 (0,005)	0,25 (0,005)
Предел определения (3σ), мг/кг (мг/л)	0,8 (0,016)	0,65 (0,013)	0,8 (0,016)	0,33 (0,006)	0,33 (0,006)	0,8 (0,016)	0,8 (0,016)
Степень извлечения, %	94	90	92	88	85	86	95
Повторяемость (ОСКО, n=3), % (C = 10/100 мг/кг)	6/5	5/4	6/3	7/4	7/3	7/5	5/4
Внутрилабораторная воспроизводимость (ОСКО, n=3), % (C = 10/100 мг/кг)	10/6	8/5	9/5	9/7	7/5	8/4	6/5

Способ был применен для определения концентрации металлов в пробах куриного мяса и в стандартных образцах печени (CRM-186 и CRM-1577с) (Таблица 41). Правильность результатов подтверждали методом «введено-найденно» и их сравнением с результатами, выполненными независимым способом. Как видно из Таблицы 41, результаты анализа согласуются с результатами, полученными по независимой процедуре. Значения $F < 19,00$ указывают на незначительные различия в точности между обеими процедурами на уровне доверия 95 %. Значение $t < 2,78$ указывает на незначительные различия между результатами, полученными с использованием этих процедур ($n = 3$).

Таблица 41 – Результаты определения металлов в образцах твердофазных мясных пищевых продуктов и стандартных образцах (n =3,

P =0,95, F =19,00, t =2,78)

Элемент		Cr	Cu	Cd	Co	Fe	Pb	Zn	
Куриное мясо	Введено, мг/кг		25,0 ± 1,0	25,0 ± 1,0	25,0 ± 1,0	25,0 ± 1,0	25,0 ± 1,0	25,0 ± 1,0	
	Найдено металлов, мг/кг	Разработанная процедура	22,5 ± 2,0	24,3 ± 1,4	23,0 ± 1,5	25,3 ± 1,2	27,0 ± 1,3	24,3 ± 1,3	26,4 ± 1,4
		Независимая процедура	24,4 ± 1,4	25,5 ± 1,1	24,3 ± 1,3	25,5 ± 1,5	26,5 ± 1,6	25,3 ± 1,9	25,4 ± 1,3
	F-тест		5,81	5,13	6,16	4,58	5,57	7,45	8,14
	t-тест		1,07	0,97	0,67	1,13	1,32	1,56	0,76
	Смещение, %		10	3	8	0,8	8	3	5
CRM (186)	Введено, мг/кг		–	31,9 ± 2,3	2,7 ± 0,3	–	99 ± 4	–	138 ± 5
	Найдено металлов, мг/кг	Разработанная процедура	<ПО	34,3 ± 1,9	2,52 ± 0,12	<ПО	107,3 ± 6,7	<ПО	145,5 ± 9,2
		Независимая процедура	<ПО	32,3 ± 2,1	2,40 ± 0,12	<ПО	102 ± 3,2	<ПО	131,3 ± 7,5
	F-тест		–	6,17	5,14	–	9,12	–	6,76
	t-тест		–	0,56	0,31	–	1,14	–	1,11
	Смещение, %		–	6,9	7,4	–	8,2	–	5,4

Продолжение таблицы

Элемент		Cr	Cu	Cd	Co	Fe	Pb	Zn	
CRM (1577с)	Введено, мг/кг	5,3 ± 0,3	25,6 ± 1,2	0,83 ± 0,04	1,54 ± 0,05	120 ± 3	6,3 ± 0,3	181 ± 6	
	Найдено металлов, мг/кг	Разработанная процедура	5,43 ± 0,15	27,2 ± 1,9	0,85 ± 0,06	1,63 ± 0,05	129 ± 4	5,9 ± 0,4	177 ± 7
		Независимая процедура	5,34 ± 0,16	29,2 ± 1,3	0,93 ± 0,05	1,65 ± 0,06	111 ± 3	6,1 ± 0,4	185 ± 8
	F-тест		7,11	5,12	8,43	9,22	7,48	6,67	4,11
	t-тест		0,67	0,55	0,76	0,91	1,23	1,14	0,98
	Смещение, %		3,8	6,2	5,5	6,6	7,5	4,8	2,2

Микроволновое разложение образцов выполняли в соответствии с процедурой, предложенной в литературе [273]. Согласно процедуре 250 мг пробы помещали в тефлоновый сосуд для разложения и добавляли 5 мл азотной кислоты (65 %) и 1 мл перекиси водорода (30 %). Затем образцы оставляли на 30 мин для предварительного разложения и помещали в микроволновую систему.

Программа микроволнового разложения включала четыре этапа: 10 мин при 500 Вт; 5 мин при 750 Вт; 20 мин при 1000 Вт; 15 мин для охлаждения. После процесса разложения образцы охлаждали до комнатной температуры, переносили в колбу объемом 25 мл, добавляли 5 мл раствора гидроксида натрия (2 моль/л) для нейтрализации избытка кислоты и доводили до метки водой, перемешивали и анализировали методом ИСП-ОЭС.

С практической точки зрения, по сравнению с другими процедурами, представленными в литературе, предложенный способ не требует использования этапа микроволновой минерализации, что существенно сокращает процедуру пробоподготовки, а также исключает использования дорогостоящего оборудования и концентрированных кислот окислителей и пероксида водорода. Это делает предложенную процедуру более экономически целесообразной и менее трудоемкой. Разработанная процедура быстрая (25 мин) и требует небольшого количества (1 г) безопасного эвтектического растворителя на основе молочной кислоты. Несмотря на то, что в литературе недавно были предложены несколько процедур для определения тяжелых металлов с использованием эвтектических растворителей в качестве экстрагентов, в данной работе впервые сравнивается эффективность их использования по сравнению с водными растворами их компонентов. Это важно с теоретической точки зрения, так как привлекает внимание к более детальному изучению процессов и механизмов микроэкстракции металлов в эвтектические растворы для разработки более эффективных процедур химического анализа.

Другой вариант реакционной микроэкстракции полярных аналитов для их извлечения в неполярные экстрагенты возможен при образовании аналитом ионного ассоциата. Например, соединения мышьяка в анионных формах способны образовывать ионные ассоциаты с положительно заряженными катионами четвертичных аммонийных солей. Образованный ионный ассоциат может быть эффективно извлечен в неполярные растворители, такие как гидрофобные ЭР. При этом, как было показано ранее, четвертичные аммонийные соли могут образовывать гидрофобные ЭР, среди которых наиболее устойчивыми являются ЭР на основе тетраоктиламмония бромиды. Поэтому для демонстрации возможности проведения реакционной микроэкстракции при образовании ионного ассоциата была разработана процедура определения следовых концентраций мышьяка в пищевых продуктах методом ЭТ-ААС с предварительным извлечением аналита в ЭР на основе тетраоктиламмония бромиды. Данная аналитическая задача была выбрана в связи с тем, что употребление пищи, содержащей мышьяк даже в низких концентрациях в течение длительного времени, может привести к хроническим заболеваниям у человека, таким как кератоз и рак кожи, сосудистые заболевания, диабет, гипертония и репродуктивные расстройства. В связи с отсутствием эффективной терапии, способной предотвратить негативные эффекты мышьяка на организм человека, важно строго контролировать качество пищевых продуктов на содержание микроконцентраций мышьяка.

В литературе предложен ряд работ по извлечению мышьяка в ЭР, однако все они используют или квазигидрофобные ЭР в качестве экстрагентов, что может приводить к их разрушению при анализе водных растворов, или гидрофобные ЭР, которые требуют введения дополнительного комплексообразователя или восстановителя для перевода мышьяка в более подходящую для экстракции форму. Такие подходы эффективны, но времязатратны и более сложны в реализации.

В данной работе впервые была предложена и реализована идея использования ЭР и в качестве экстрагента, и в качестве источника противоиона для образования ионного ассоциата с аналитом (Рисунок 79). Для этого были использованы устойчивые гидрофобные ЭР на основе тетраоктиламмония бромида и жирных кислот. Предложенный подход позволил извлекать аналит в фазу ЭР без использования дополнительных комплексообразователей и восстанавливающих агентов. Таким образом, был разработан подход микроэкстракции на основе гидрофобного ЭР для определения следов общего мышьяка в продуктах питания (рисе и пшенице) методом ЭТ-ААС.

Для определения общего мышьяка пробу пищевого продукта разлагали, используя микроволновую систему пробоподготовки. Микроволновое разложение образцов проводилось для перевода всех возможных форм аналита в форму мышьяк (V). Для этого измельченный образец риса или пшеницы помещали в тефлоновый сосуд для микроволновой минерализации, добавляли 5 мл 65% HNO_3 и 2 мл 30% H_2O_2 . Смесь оставляли на 15 мин, затем помещали в микроволновую печь. Программа, используемая для микроволнового разложения, была использована в соответствии с [299]. Минерализат переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили до метки и полученный раствор использовали для дальнейшего концентрирования аналита.

Полученный таким образом раствор помещали в пластиковую пробирку и добавляли ЭР на основе тетраоктиламмония бромида и жирной кислоты. Пробу и ЭР помещали на вихревую мешалку для реализации стадии микроэкстракции. Затем фазы разделяли центрифугированием при 6000 об/мин в течение 2 мин. Затем отбирали фазу ЭР, разбавляли ее в два раза изопропиловым спиртом для уменьшения вязкости экстракта. Полученный раствор анализировали методом ЭТ-ААС.



Рисунок 79 – Схема микроэкстракции мышьяка из раствора минерализата пищевого продукта в гидрофобный ЭР

В данном исследовании различные ЭР на основе тетраоктиламмония бромида и жирных кислот (гептановая, октановая, нонаановая, декаановая кислоты) были изучены в качестве экстрагентов для микроэкстракции мышьяка (V). Известно, что при микроволновом разложении возможные органические и неорганические формы мышьяка переходят в форму мышьяка (V). Предполагалось, что при pH менее 7 мышьяк будет находиться в форме мышьяковой кислоты. Однако соотношение долей формы данной кислоты зависит от pH. Поэтому на первом этапе для понимания механизма экстракции изучалось влияние кислотности водной фазы на степень извлечения мышьяка (V). Использованные в работе ЭР на основе тетраоктиламмония бромида и жирных кислот стабильны при контакте с водной фазой при pH менее 7, так как в более щелочной среде возможны процессы разрушения данных ЭР за счет растворения жирной кислоты из-за ее ионизации. Поэтому влияние кислотности изучалось только в диапазоне от 1 до 7. Мышьяк (V) может существовать в водном растворе в четырех формах в зависимости от pH: H_3AsO_4 , H_2AsO_4^- , HAsO_4^{2-} и AsO_4^{3-} . Для изучения влияния кислотности 1,0 мл

рабочего раствора аналита (мышьяк (V), 25 мкг/л) и 1,0 мл ЭР на основе тетраоктиламмония бромида и гептановой кислоты (1/2 моль/моль) смешивали в течение 15 мин. После разделения фаз органическую и водную фазы анализировали для оценки степени извлечения аналита. Для определения форм существования аналита была построена диаграмма зависимости долей форм аналита от pH в водной фазе с использованием констант диссоциации. Полученные экспериментальные данные и расчётные значения были сопоставлены (Рисунок 80). Результаты показали, что увеличение pH выше 4 приводит к резкому снижению степени извлечения аналита. Можно предположить, что две формы аналита наиболее эффективно извлекаются в фазу ЭР: нейтральная H_3AsO_4 и однозарядная H_2AsO_4^- . Массоперенос нейтральной формы (H_3AsO_4) происходит за счет гидрофобного взаимодействия и за счет возможного образования водородных связей между протоном гептановой кислоты и атомами кислорода мышьяковой кислоты. Массоперенос однозарядной формы (H_2AsO_4^-) может быть основан образованием ионных ассоциатов между отрицательно заряженными дигидроарсенатом и положительно заряженным катионом тетраоктиламмония. Для обеспечения воспроизводимости процесса экстракции было выбрано реализовывать данный процесс при pH 3.

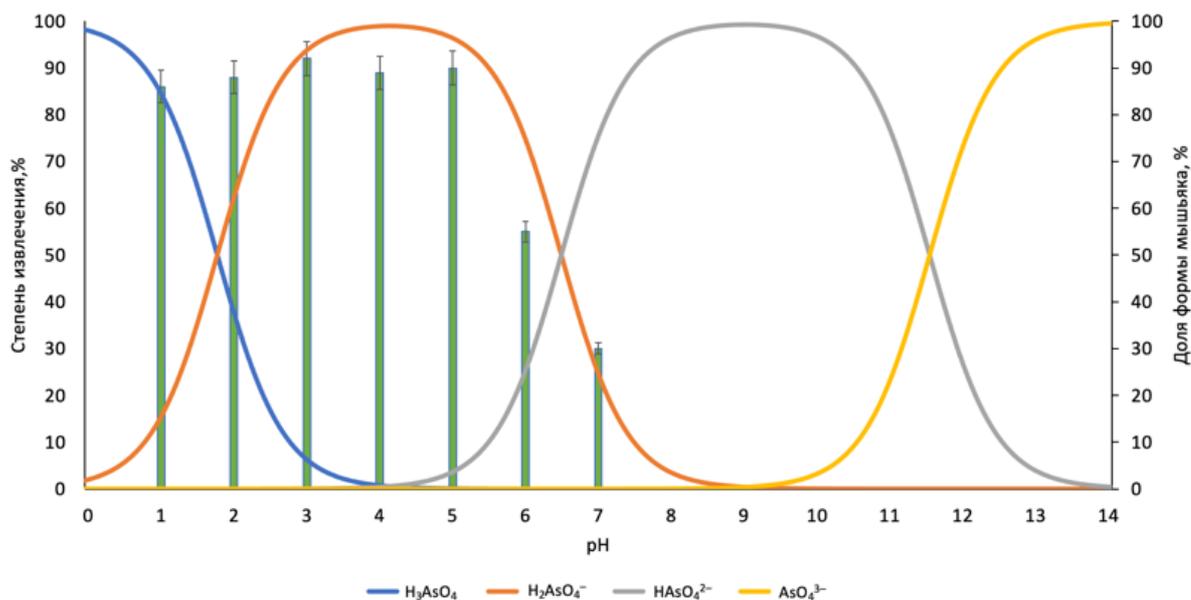


Рисунок 80 – Распределение долей форм мышьяка и влияние pH на степень извлечения мышьяка (V) в ЭР на основе бромида тетраоктиламмония-гептановой кислоты (1/2) (n=3, соотношение фаз 1/1, концентрация аналита 25 мкг/л, время экстракции 15 мин)

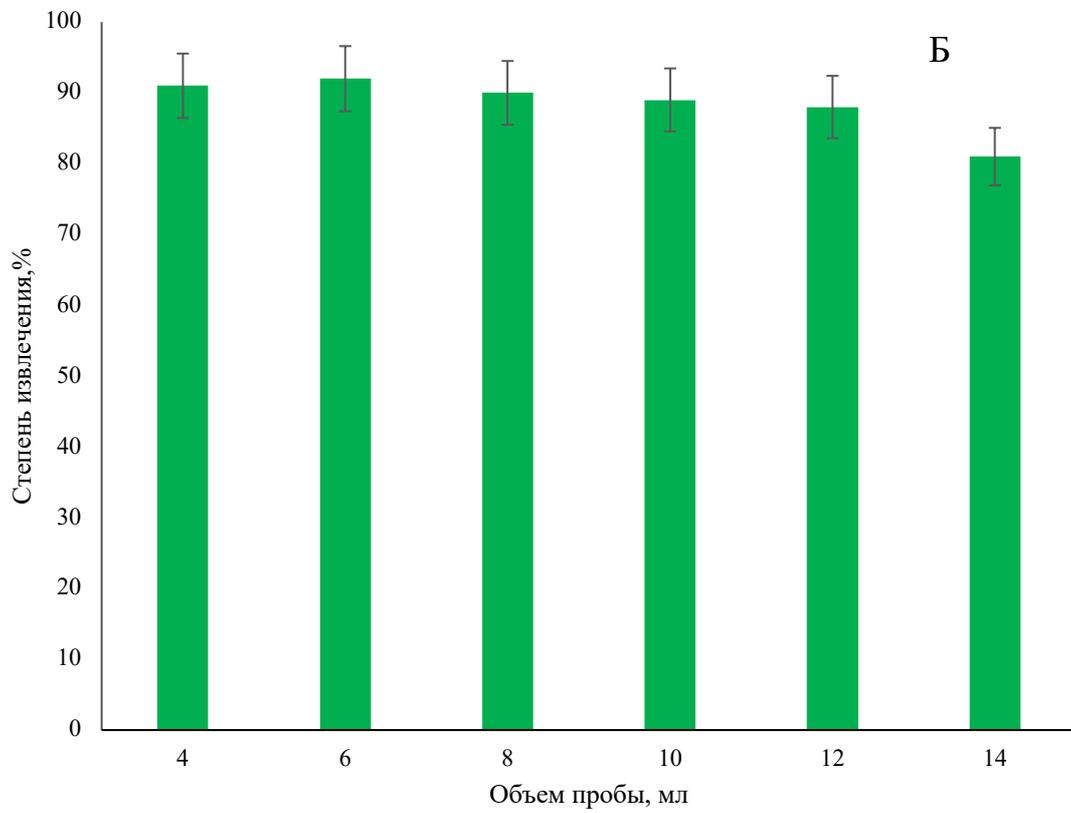
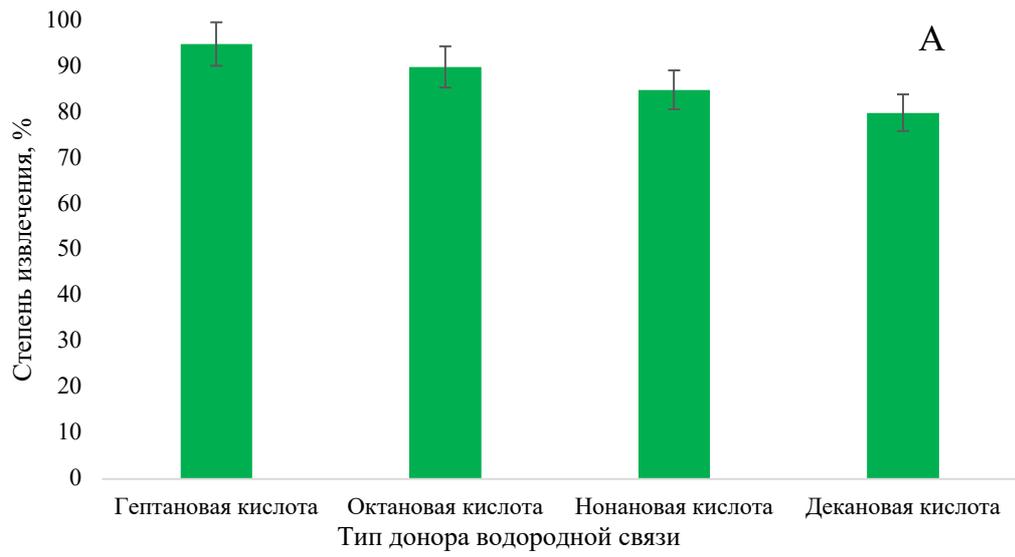
В составе использованного ЭР ТОА отвечает за образование ионного ассоциата а с помощью кислоты можно варьировать полярность экстрагента. Поэтому было изучено влияние типа кислоты от гептановой до декановой на степень извлечения аналита. Для этого были изготовлены ЭР на основе тетраоктиламмония бромида и выбранных кислот в мольном соотношении 1/2 (моль/моль).

Для этого 100 мкл ЭР добавляли к 500 мкл раствора аналита (10 мкг/л) и перемешивали экстракционную смесь в течение 15 мин. После разделения фаз центрифугированием (6000 об/мин, 5 мин) экстракт растворяли в изопропиловом спирте и анализировали методом ЭТ-ААС. Было установлено, что все изученные ЭР обеспечивали сопоставимую экстракцию мышьяка из кислой водной фазы, однако с увеличением гидрофобности донора водородной связи в составе ЭР от гептановой кислоты до декановой, величина степени извлечения немного снижались. Данный процесс обусловлен снижением полярности ЭР, что снижает степень извлечения полярных форм

аналита. Также ЭР на основе гептановой кислоты обеспечивал наименьшую вязкость, что увеличивало кинетику массопереноса.

Для изучения влияния состава ЭР на массоперенос мольное соотношение тетраоктиламмония бромида (ТОВА бромида) и гептановой кислоты варьировалось от 3/1 до 1/3 (моль/моль). Было обнаружено, что ЭР, состоящий из тетраоктиламмония бромида и гептановой кислоты (1/1, моль/моль), обеспечивал максимальное значение степени извлечения. Увеличение доли ТОВА приводило к получению кристаллизуемых при комнатной температуре ЭР, а повышение доли кислоты снижало концентрацию ТОВА, что могло приводить к смещению равновесия реакции образования ионного ассоциата в сторону свободной формы аналита.

С одной стороны, соотношение между ЭР и фазой пробы должно быть максимальным для достижения наибольшего концентрирования аналита. С другой стороны, фазы ЭР должно быть достаточно для его стабильности и удобного разделения фаз. Объем водной фазы варьировался от 4 до 14 мл, а объем фазы ЭР оставался постоянным (100 мкл). Такой объем ЭР позволял удобно его отделять для последующего анализа методом ЭТ-ААС. Как показано на Рисунке 81, с увеличением объема образца до 12 мл степень извлечения аналита оставалась постоянной на уровне более 90%. При увеличении объема раствора аналита более 12 мл, степень извлечения уменьшалась, за счет возможного растворения части экстрагента. Полученные результаты показали, что соотношение фаз 1/120 (ЭР/проба) обеспечивало максимальный коэффициент концентрирования.



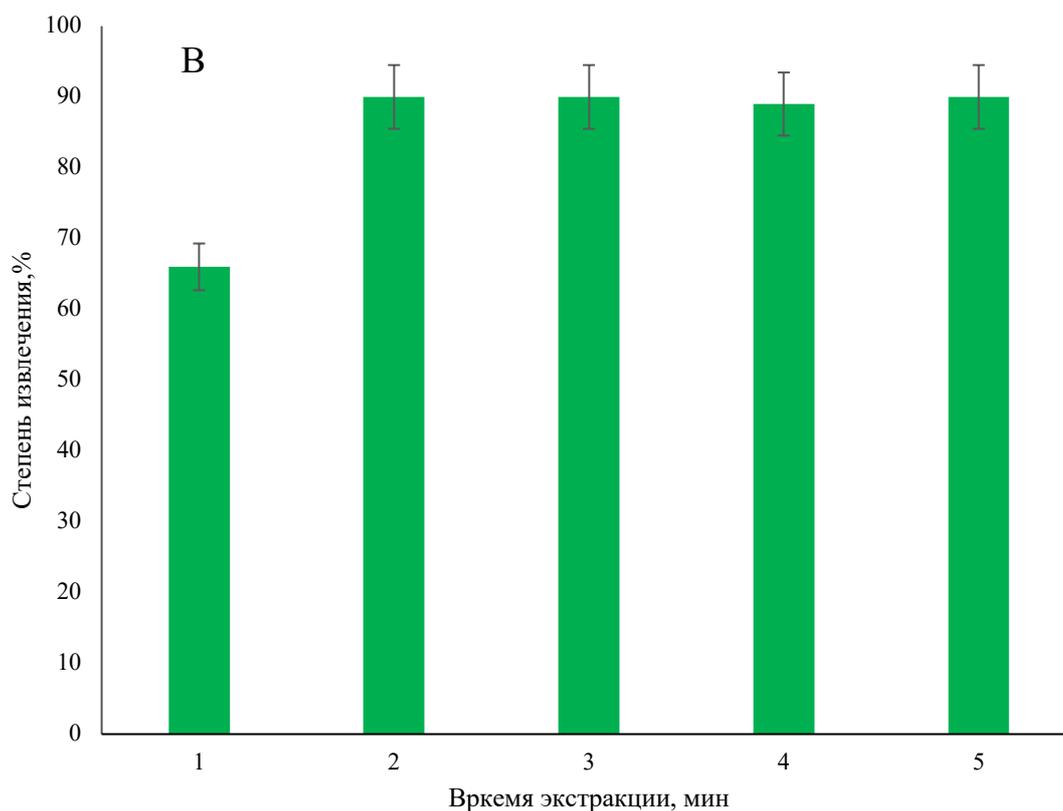


Рисунок 81 – Оптимизация условий извлечения мышьяка в гидрофобный ЭР $n=3$ (А) Влияние донора водородной связи (жирной кислоты) на степень извлечения мышьяка (V) в ЭР (мольное соотношение 1/2 (тетраоктиламмоний бромид/жирная кислота), объем ЭР 100 мкл, объем пробы 500 мкл, концентрация аналита 25 мкг/л, рН 3,0, время извлечения 15 мин), (Б) Влияние объема пробы на степень извлечения мышьяка (V) (ЭР на основе тетраоктиламмоний бромида/гептановой кислоты (1/1), объем ЭР 100 мкл, концентрация аналита 25 мкг/л, рН 3,0, время извлечения 15 мин), (В) Влияние времени экстракции на степень извлечения мышьяка (V) (ЭР на основе тетраоктиламмоний бромида/гептановой кислоты (1/1), объем ЭР 100 мкл, объем образца 12 мл, рН 3,0, концентрация аналита 25 мкг/л)

В данной работе для интенсификации процесса микроэкстракции использовали лабораторный вортекс, который позволяет быстро и интенсивно диспергировать фазу экстрагента в объеме пробы без использования дополнительных диспергаторов. В данном случае время перемешивания является ключевым параметром для достижения максимальной степени извлечения. Время перемешивания варьировалось от 1 до 5 мин, и было обнаружено, что 2 мин было достаточно для достижения равновесия в

экстракционной системе. Также изучалось влияние времени центрифугирования на степень извлечения и было показано, что 2 мин при 6000 об/мин было достаточно для разделения фаз для последующего анализа методом ЭТ-ААС.

Так как при использовании метода анализа ЭТ-ААС возможно наблюдение спектральных помех при использовании ЭР в качестве растворителя, было изучено влияние ЭР на аналитический сигнал. Для этого были приготовлены растворы ананта в воде, в ЭР, а также в ЭР, разбавленными изопропиловым спиртом в два раза. Данные растворы анализировали при одинаковых условиях, и был оценен матричный эффект с использованием следующей формулы:

Матричный эффект (%) = (поглощение органической фазы / поглощение водного рабочего раствора - 1) × 100

Было показано, что двукратное разбавление изопропиловым спиртом значительно снижало матричный эффект ЭР с -34% (без разбавления) до 3% (после разбавления). Таким образом, двукратное разбавление экстрактов требовалось для получения воспроизводимых результатов.

Результаты валидации разработанного способа представлены в таблице 42. Градуировочная зависимость была построена с использованием ГСО состава раствора мышьяка (V) (ГСО 7976-2001). Растворы для градуировки проводили через все стадии пробоподготовки. ДОК мышьяка в пробе составил от 1,5 до 150 мкг/кг ($R^2=0,996$). Предел обнаружения (3σ) и определения (10σ) составил 0,5 мкг/кг 1,5 мкг/кг соответственно. Степень извлечения составила 95 %, коэффициент концентрирования – 57 (с учетом разбавления). Для оценки прецизионности рассчитывали ОСКО. Значения ОСКО в условиях повторяемости и внутрилабораторной воспроизводимости составили 4 % и 8 % соответственно.

Таблица 42 – Аналитические характеристики разработанного способа определения мышьяка крупах

Параметр	Значение
Предел определения для водного раствора (3σ), нг/л	10
Предел обнаружения для водного раствора (10σ), нг/кг	30
ДОК для водного раствора, нг/л	30-3000
R^2 для водного раствора	0,999
Предел определения для твёрдого образца (3σ), мкг/кг	0,5
Предел обнаружения для твёрдого образца (10σ), мкг/кг	1,5
ДОК для твёрдого образца, мкг/кг	1,5-150
R^2 для твердой пробы	0,996
Повторяемость, ОСКО, % (1,5/150 мкг/кг) $n=3$	6/4
Воспроизводимость, ОСКО, % (1,5/150 мкг/кг) $n=3$	10/8
Степень извлечения, %	95
Коэффициент концентрирования	57

Способ был применен для оценки содержания мышьяка в пробах пищевых продуктов после их минерализации (Таблица 43). Правильность результатов подтверждали методом «введено-найденно» и их сравнением с результатами, выполненными независимым способом с использованием метода ИСП-ОЭС. Результаты показали отсутствие значительных различий между концентрациями, найденными двумя способами (Таблица 43). Полученные результаты были опубликованы в работе [300].

Таблица 43 – Результаты определения мышьяка в крупах ($n = 4$, $P = 0,95$; $F_k = 9,28$; $t_k = 3,18$)

Образец	Концентрация аналита, мкг/кг			t -тест	F-тест	Относительное смещение, %
	Введено, мкг/кг	Найдено разработанный способ	Найдено независимый способ			
Рис 1	0	<0,5	<1	–	–	–
	50,0	49,2 ± 1,9	50,3 ± 1,2	1,95	1,88	2
Рис 2	0	<0,5	<1	–	–	–
	50,0	48,0 ± 3,2	51,0 ± 2,1	2,22	2,41	4
Пшеница 1	0	<0,5	<1	–	–	–
	50,0	49,3 ± 0,6	49,7 ± 0,4	1,92	2,58	2
Пшеница 2	0	<0,5	<1	–	–	–
	50,0	44,0 ± 1,5	43,0 ± 0,6	1,12	6,32	12

В Таблице 44 приведены аналитические характеристики предложенной процедуры и других процедур, представленных в литературе для определения мышьяка с применением эвтектических растворителей. Пределы обнаружения и пределы количественного определения предложенной процедуры сопоставимы с представленными процедурами. Однако, в отличие от предложенных в литературе процедур, в разработанной процедуре не требовалось введение дополнительного диспергирующего растворителя, эмульгатора, комплексообразователя или восстановителя. Для эффективного концентрирования аналита из раствора образца использовался только гидрофобный ЭР на основе тетраоктиламмония бромида и гептановой кислоты. В данном случае образование ионных ассоциатов между аналитом и катионом тетраоктиламмония фазе ЭР позволяет эффективно концентрировать мышьяк из матрицы образца, что обеспечивает селективность, минимизирует помехи от других компонентов образца, повышая точность и надежность анализа.

Таблица 44 – Сравнение аналитических характеристик разработанной процедуры и предложенных в литературе для определения мышьяка в пищевых продуктах с использованием эвтектических растворителей

Метод анализа	Образец	Состав ЭР (тип)	Диспергатор	Эмульгатор	Хелатирующий агент	Время экстракции, мин	ПО, нг/л	ПКО, нг/л	Степень извлечения, %	СКО, %	Ссылка
ААС с генерированием гидридов	Вода, рис и мед	Хлорид бензилтрифенилфосфония, этиленгликоль (квазигидрофобный)	Нет	Тetraгидрофуран	Этилендиамин-N,N'-диянтарная кислота	5	6	20	95	4	[301]
ЭТ-ААС	Вода	Хлорид холина, фенол (гидрофильный)	Нет	Тetraгидрофуран	Диэтилдитиокарбамат	10	10	33	96	4,3	[302]
Пламенная ААС	Вино	Молочная кислота, хлорид триоктилметиламмония (квазигидрофобный)	Метанол	Нет	Нет	10	300	2000	95	4,5	[303]
ЭТ-ААС	Крупы	Бромид тетраоктиламмония, гептановая кислота (гидрофобный)	Нет	Нет	Нет	6	10	30	95	8	Данная работа

Таким образом было показано, что использование эвтектических растворителей в реакционной микроэкстракции открывает новые возможности и преимущества по сравнению с традиционными методами экстракции. Эти возможности включают улучшенную селективность, более высокую эффективность экстракции и экономическую эффективность. В качестве основных закономерностей, выявленных при разработке процедур реакционной микроэкстракции с применением ЭР можно выделить, что ЭР могут быть специально разработаны для селективного взаимодействия с определенными аналитами. Это достигается путем выбора компонентов ЭР, которые могут образовывать водородные связи, проявлять донорно-акцепторное взаимодействие, ионные взаимодействия, образовывать ковалентные связи или другие специфические химические связи с целевыми соединениями. Это значительно уменьшает влияние мешающих веществ и позволяет более точно и надежно определять концентрации аналитов в сложных матрицах.

Было показано, что ЭР могут быть настроены для различных типов аналитов и матриц путем изменения их состава. Это открывает возможности для применения реакционной микроэкстракции в самых разных областях, включая фармацевтику, пищевую промышленность, экологический мониторинг и клиническую диагностику. Способность легко модифицировать состав ЭР позволяет адаптировать способ реакционной микроэкстракции для специфических задач и условий анализа. Более детально были выявлены основные закономерности извлечения металлов из неполярных матриц в зависимости от состава ЭР, и было показано сильное влияние состава ЭР на эффективность извлечения конкретных элементов.

В данных примерах в качестве метода анализа были преимущество использованы спектральные методы, однако реакционная микроэкстракция с применением ЭР может быть использована для дальнейшего анализа с использованием различных методов анализа, таких как высокоэффективная жидкостная хроматография с различными детекторами, газовая

хроматография, масс-спектрометрия и другие. Это расширяет возможности для точного и детального анализа различных веществ в сложных матрицах.

Глава 7. Автоматизация реакционной жидкостной микроэкстракции на принципах проточных методов с применением эвтектических растворителей

Автоматизация химического анализа представляет собой внедрение технологий и систем, которые позволяют выполнять сложные аналитические процедуры с минимальным вмешательством человека. Этот подход открывает множество новых возможностей и преимуществ в области аналитической химии. Основные возможности, которые предоставляет автоматизация, включают повышение точности и воспроизводимости анализа, увеличение скорости выполнения процедур, снижение влияния человеческого фактора и повышение безопасности лабораторных операций.

Автоматизированные системы позволяют строго контролировать многие параметры процесса, такие как температура, время экстракции, объемы реагентов и скорость перемешивания, что уменьшает вариативность, связанную с человеческим фактором. Это особенно важно при анализе сложных матриц, где отклонения могут существенно повлиять на конечный результат.

Увеличение скорости выполнения аналитических процедур является еще одним значительным преимуществом автоматизации. Автоматизированные системы могут работать круглосуточно, не требуя перерывов, что позволяет значительно увеличить производительность лабораторий и ускорить получение результатов. Это особенно важно в клинических и промышленных лабораториях, где время анализа может быть критически важным.

Среди всех подходов к автоматизации в аналитической химии проточные методы заслуженно считаются наиболее эффективными. Проточные методы анализа основаны на перемещении аликвоты анализируемого образца через различные реакционные зоны и детекторы, что обеспечивает высокую скорость и точность анализа. Эти подходы позволяют

автоматизировать многие методы пробоподготовки, такие как жидкостная микроэкстракция и твердофазная сорбция.

Важным преимуществом проточных методов является их гибкость и адаптивность. Эти методы могут быть легко настроены для различных типов анализов и образцов путем изменения конфигурации проточных систем и использования различных детекторов и реакционных зон. Это делает проточные методы универсальными инструментами, которые могут быть адаптированы для решения широкого спектра аналитических задач.

Несмотря на свою эффективность и многочисленные преимущества, проточные методы сталкиваются с серьезным ограничением, связанным с использованием токсичных и летучих растворителей. Традиционно в проточных системах используются органические растворители, такие как хлороформ, ацетонитрил и гексан, для экстракции и анализа различных соединений.

Использование токсичных растворителей приводит к образованию большого количества опасных отходов, которые требуют специальной утилизации, что увеличивает затраты и усложняет эксплуатацию аналитических лабораторий. Кроме того, необходимость работы с летучими и токсичными веществами требует применения дополнительных мер предосторожности, таких как использование вытяжных шкафов и защитного оборудования, что также увеличивает операционные расходы и снижает общую эффективность аналитических процедур.

Эти особенности ограничивают возможности проточных методов и препятствуют их широкому применению в ситуациях, где требуется экологически безопасный и устойчивый подход к анализу.

В свою очередь внедрение эвтектических растворителей в проточные методы анализа представляет собой перспективное решение, которое позволяет устранить вышеупомянутые ограничения и сделать проточные методы более безопасными. Кроме экологических преимуществ использование ЭР при реализации реакционной микроэкстракции в

проточных методах позволит разработать новые эффективные схемы анализа для выделения и концентрирования аналитов различной природы, за счет правильного подбора компонентов ЭР, которые смогут вступать в реакции с аналитами, для перевода их в более эффективные для экстракции формы.

В данной работе был предложен автоматизированный способ реакционной микроэкстракции металлов (свинец и медь) из пищевых масел за счет комплексообразования аналитов в фазе ЭР (Рисунок 82). Данные аналиты были выбраны с точки зрения необходимости контроля их содержания в пищевых маслах. В соответствии с ГОСТ 26932-86, допустимое содержание свинца в растительных маслах не должно превышать 0,1 мг/кг. Важность контроля содержания свинца обусловлена его токсичным воздействием на организм человека. Свинец может накапливаться в организме, вызывая вредное воздействие на кровеносную, почечную и репродуктивную системы, а также на центральную нервную систему.

Медь, хоть и необходима человеку для нормального развития, в высоких концентрациях способна наносить вред организму, а также катализировать окисление пищевых масел, что приводит к ухудшению их качества. Таким образом, задача определения меди и свинца в пищевых маслах является важной задачей аналитической химии. Для определения данных металлов в растительных маслах широко используются методы атомно-абсорбционной спектрометрии (ААС) и атомно-эмиссионной спектрометрии (АЭС), а также электрохимические методы. Независимо от метода анализа, пробы растительных масел предварительно проходят этап пробоподготовки. Как правило, пробоподготовка включает микроволновую минерализацию пробы масла или ее разбавление органическим растворителем, таким как спирт или ксилол. Процессы микроволновой минерализации проводится в присутствии избытка азотной кислоты и перекиси водорода, что приводит к выделению токсичных оксидов азота в атмосферу. Также ограничением данного варианта пробоподготовки является необходимость нейтрализовать избыток азотной кислоты и многократно разбавить минерализат для уменьшения концентрации

образующихся солей. Однако процедура разбавления нецелесообразна при определении следовых концентраций данных аналитов.

В данной работе был предложен альтернативный способ определения металлов в пищевых маслах, основанный на их автоматизированном микроэкстракционном извлечении с использованием природных эвтектических растворителей. Для автоматизации жидкостной микроэкстракции в данной работе использовали проточный метод анализа – лаборатория-в-шприце, в котором основной акцент делается на замене ручных процедур автоматизированными операциями.

Для извлечения металлов были использованы изученные на предыдущих этапах ЭР на основе холина хлорида, карбоновых кислот и воды. Разработанный способ включает последовательное выполнение стадий массопереноса в фазу ЭР и разделение фаз непосредственно в шприцевом насосе проточной системы. Определение металлов в экстрактах проводилось методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией.

Согласно предложенным автоматизированным схемам анализа, образец масла подавали в шприц проточного анализатора. Затем в шприц вводили ЭР, используемый в качестве экстрагента. Смесь интенсивно перемешивали с помощью магнитной мешалки, которая находилась внутри шприца, после чего выдерживали паузу для разделения фаз. Верхнюю фазу масла удаляли из шприца, экстракт разбавляли водой и анализировали методом ЭТ-ААС.

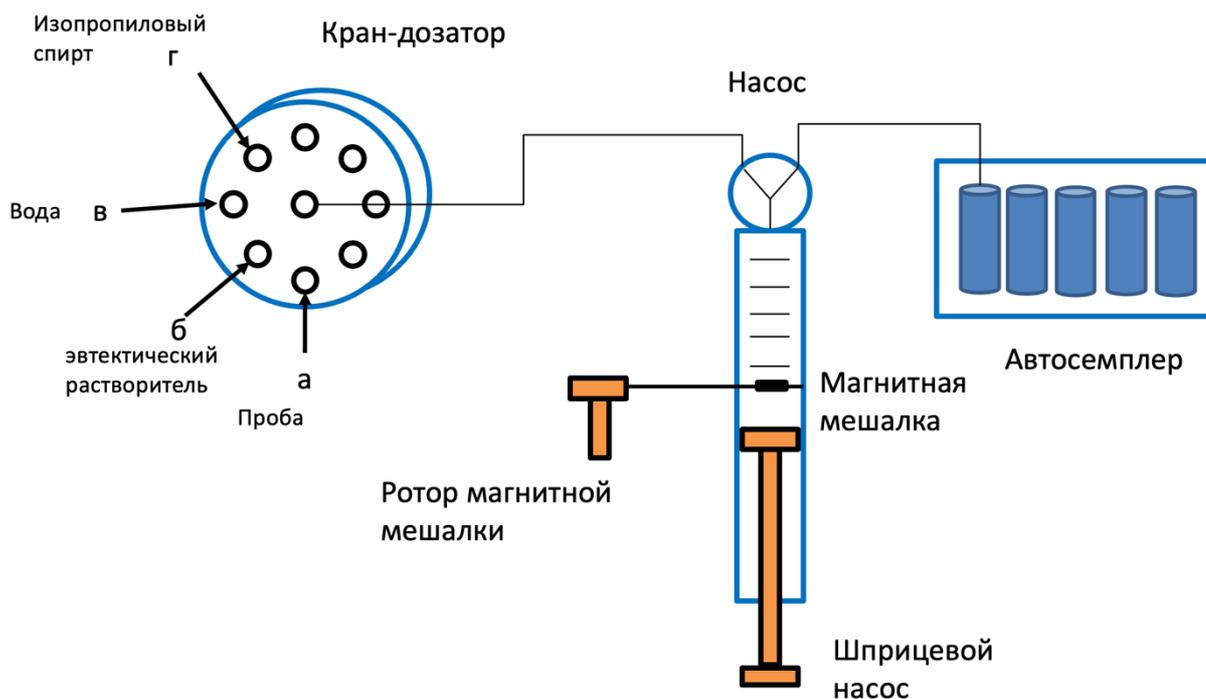


Рисунок 82 – Автоматизированная схема реакционной микроэкстракции свинца и меди из пищевого масла в ЭР

Для выбора наиболее оптимального экстрагента на предварительном этапе были исследованы двойные гидрофильные ЭР на основе хлорида холина и карбоновых кислот (винная, яблочная, лимонная, щавелевая и малоновая кислоты) в качестве экстрагентов для извлечения аналитов. Выбор данных ЭР был обусловлен тем, что они не смешиваются с растительным маслом, а выбранные карбоновые кислоты образуют комплексные соединения с аналитами. В предварительных экспериментах экстракцию проводили вручную в варианте. Для этого 1,00 г раствора металлов в подсолнечном масле (100 мкг/кг) и 1,00 г ЭР смешивали в стеклянном флаконе. Смесь нагревали до 50 °С для снижения вязкости образца и экстрагента и перемешивали в течение 30 мин с помощью магнитной мешалки. Затем смесь центрифугировали в течение 10 мин при 6000 об/мин, отбирали фазу экстракта, разбавляли десятикратно деионизированной водой и анализировали методом ЭТ-ААС. Было установлено, что все исследованные ЭР обеспечивают эффективное извлечение металлов из растительного масла со степенью извлечения более

90 % (Рисунок 83). Однако все использованные двойные ЭР представляли собой высоковязкие жидкости, которые не могли быть использованы в проточной системе.

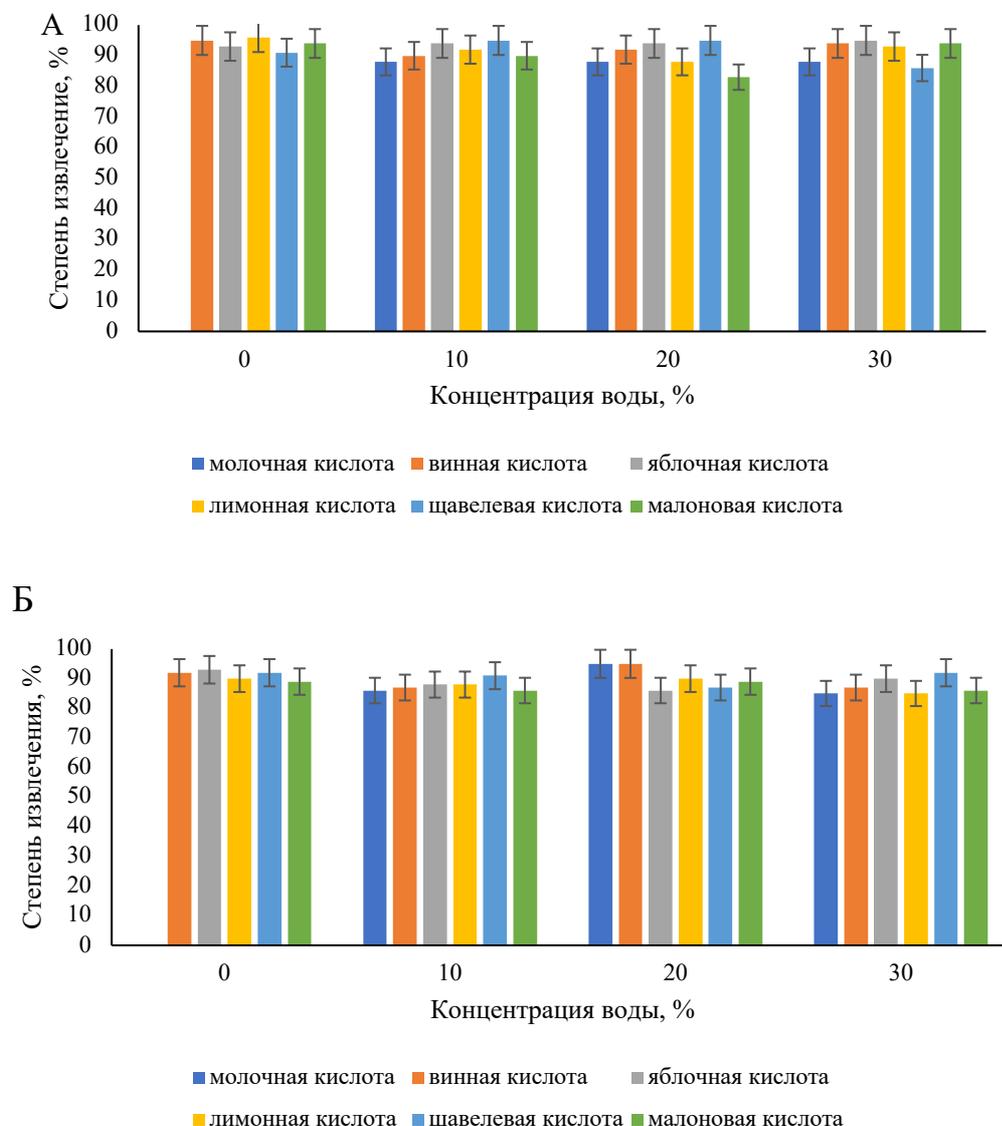


Рисунок 83 – Влияние состава ЭР на степень извлечение свинца (А) и меди (Б) из растительного масла ($n=3$, 100 мкг/л Рв и Сu, масса пробы – 1,0 г, масса ЭР – 1,0 г, время экстракции – 30 мин)

Для уменьшения вязкости экстрагентов в двойные ЭР добавляли воду в концентрации от 10 % до 30%. Все тройные ЭР на основе хлорида холина, карбоновых кислот (молочная, винная, яблочная, лимонная, щавелевая и малоновая кислоты) и воды были изучены для оценки возможности

извлечения аналитов из растительного масла. На основании полученных данных был сделан вывод, что двойные и тройные ЭР обеспечивают сопоставимую степень извлечения аналитов. Однако так как с увеличением содержания воды в тройных ЭР их вязкость значительно уменьшается, это открывает возможности их использования в качестве растворителей в проточном анализе. Минимальные значения динамической вязкости были получены для ЭР на основе молочной, щавелевой и малоновой кислот. Однако в случае определения свинца возможно образование малорастворимых соединений с щавелевой и малоновой кислотами, образование которых может приводить как к получению заниженных результатов, так и к засорению проточной системы. Поэтому ЭР на основе молочной кислоты были выбраны для дальнейших исследований. Дальнейшие исследования проводили в автоматизированном варианте.

Для достижения максимального коэффициента концентрирования было изучено влияние объема экстрагента на степень извлечения аналитов. Объем пробы был равен 4 мл, так как рабочий объем шприца составлял 5 мл. Для этого порцию пробы раствора металлов в подсолнечном масле (4,0 мл, 25 мкг/кг) подавали в шприцевой насос проточной системы, после чего в насос вводили ЭР (хлорид холина, молочная кислота и вода (30%)) от 100 до 500 мкл. После этого двухфазную систему перемешивали вкладышем магнитной мешалки в течение 20 мин. После разделения фаз экстракт разбавляли десятикратно деионизированной водой и анализировали. При уменьшении объема фазы ЭР до 100 мкл значение аналитического сигнала закономерно увеличивалось за счет увеличения соотношения объемов пробы и экстрагента. Однако при объеме ЭР 100 мкл и менее, было невозможно воспроизводимо отобрать одинаковый объем фазы экстрагента, что было связано с присутствием мелких капель пробы. Поэтому в качестве оптимального объема было выбрано 200 мкл экстрагента. Также было изучено влияние степени разбавления фазы ЭР на воспроизводимость аналитического сигнала. Было установлено, что минимальное смещение (8 %) наблюдалось при пятикратном

или более разбавлении экстракта. В этом случае для построения калибровочной зависимости можно использовать водные растворы аналитов. Таким образом, при соотношении фаз 1/20 (ЭР/образец) степень извлечения аналитов составляет более 95 %, а коэффициент концентрирования с учетом пятикратного разбавления – 4 (Рисунок 84).

Так как кинетика экстракции в случае использования вязких проб и экстрагентов зависит от времени контакта фаз, пробу (4,0 мл, 25 мкг/кг) и ЭР (200 мкл), смешивали в шприце от 1 до 10 мин. Было установлено, что для установления равновесия в экстракционной системе необходимо перемешивание фаз в течение 5 мин.

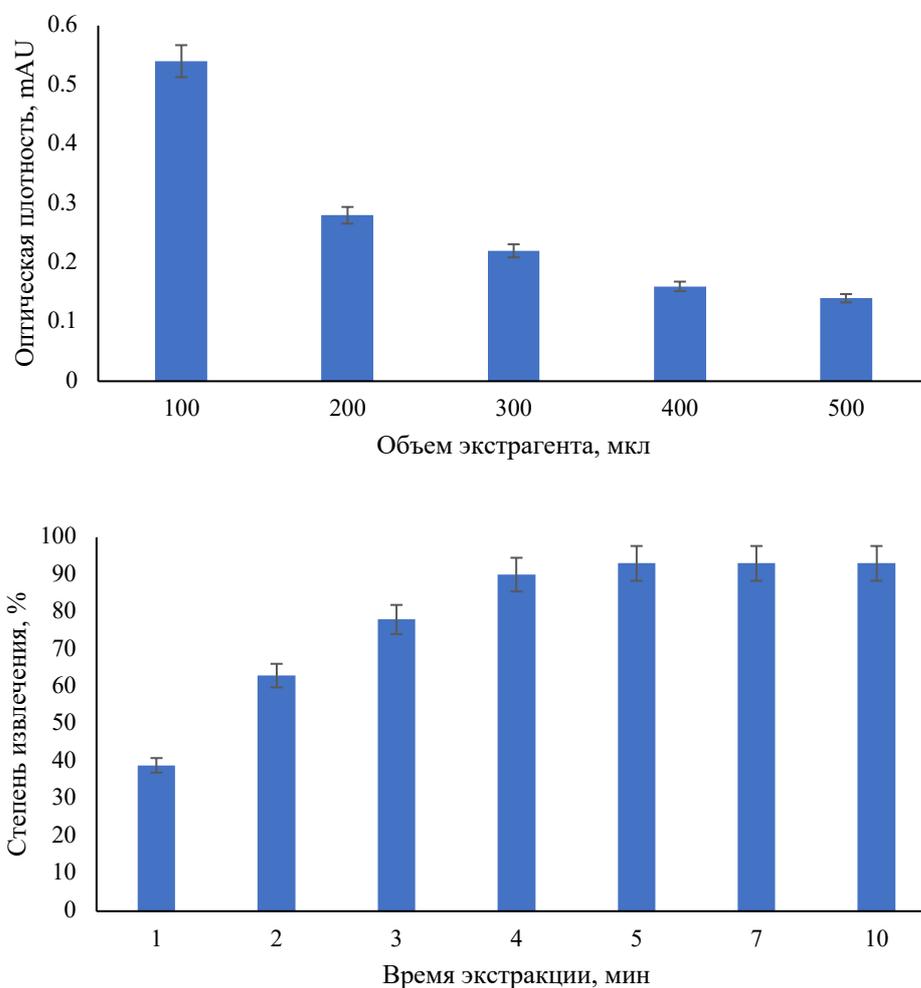


Рисунок 84 – (А) Влияние объема тройного ЭР на основе хлорида холина, молочной кислоты и воды на оптическую плотность экстракта (n=3, 25 мкг/л Pb, объем пробы 4,0 мл, время экстракции 10 мин), (Б) Влияние времени экстракции в шприцевом насосе на степень извлечение свинца из растительного масла (n=3, 25 мкг/л Pb, объем пробы 4,0 мл, объем ЭР 100 мкл). Для меди результаты были аналогичны.

Результаты валидации разработанного способа представлены в Таблице 45. Градуировочные зависимости были построены с использованием ГСО состава раствора свинца и меди в минеральном масле (СМН-ПА). Растворы для градуировки проводили через все стадии пробоподготовки. ДОК свинца и меди составили 1-20 мкг/л ($R^2=0,9993$) и 0,3-15 мкг/л ($R^2=0,9992$) соответственно. Пределы обнаружения (3σ) и определения (10σ) составили 0,3 и 0,1 мкг/л и 1 и 0,3 мкг/л для свинца и меди соответственно. Степень извлечения составила 95 %, коэффициент концентрирования – 4 для обоих аналитов. Для оценки прецизионности рассчитывали ОСКО. Значения ОСКО в условиях повторяемости и внутрилабораторной воспроизводимости составили 4-6 % и 7-8 % соответственно.

Таблица 45 – Аналитические характеристики предложенного автоматизированного способа извлечения свинца и меди из пищевых масел

Параметр	Pb	Cu
Диапазон определяемых концентраций, мкг/кг	1-20	0,3-15
R^2	0,9993	0,9992
Предел обнаружения (3σ), мкг/кг	0,3	0,1
Предел определения (10σ), мкг/кг	1	0,3
Степень извлечения, %	95	95
Коэффициент концентрирования	4	4
Повторяемость (ОСКО, n=3), % (C = 1/20 мкг/кг)	7/5	5/4
Внутрилабораторная воспроизводимость (ОСКО, n=3), % (C = 1/20 мкг/кг)	9/7	8/6

Способ был применен для оценки содержания металлов в пробах пищевых масле (Таблицы 46, 47). Правильность результатов подтверждали методом «введено-найдено» и их сравнением с результатами, выполненными

независимым способом. Во всех образцах масла концентрация металлов была ниже предела обнаружения. Для всех образцов смещение не превышало 8 %.

Для независимого метода использовали метод ИСП-ОЭС после предварительной микроволновой минерализации образцов. Для этого 0,50 г образца масла смешивали с 3,0 мл 65 % азотной кислоты и 2,0 мл 30 % перекиси водорода в тефлоновом сосуде для микроволнового разложения. После 30 мин сосуды помещали в микроволновую систему минерализации и разложение проводили по следующей программе: повышение температуры до 130 °С в течение 5 мин; выдержка при 130 °С в течение 15 мин; охлаждение до 80 °С в течение 10 мин. Полученные минерализаты нейтрализовали добавлением аммиачного раствора (6 моль/л), растворы переносили в мерные колбы на 25 мл и разбавляли до метки деионизированной водой для дальнейшего анализа.

Для сравнения полученных результатов методом ААС и ИСП-ОЭС использовали F- и t-тесты. Полученные значения $F \leq 5,05$ указывают на незначительное различие в значениях стандартных отклонений, а значения $t \leq 2,78$ указывают на отсутствие статистически значимых различий между полученными результатами. Полученные результаты были опубликованы в работах [304] [305].

Таблица 46 – Результаты определения свинца в пищевых маслах (n = 5, P = 0,95, F = 5,05, t = 2,78)

Образец	Введено, мкг/кг	Найдено, мкг/кг		F-тест	t-тест	Относительное смещение, %
		Разработанная процедура	Независимая процедура			
Подсолнечное масло	0	<ПО	<ПО	–	–	–
	1	0,92 ± 0,02	0,93 ± 0,02	2,34	1,43	8
	10	10,8 ± 0,4	11,4 ± 0,4	2,45	1,56	8
Рапсовое масло	0	<ПО	<ПО	–	–	–
	1	1,01 ± 0,03	1,02 ± 0,02	2,46	1,33	1
	10	9,7 ± 0,3	9,9 ± 0,4	3,45	0,97	3
Оливковое масло	0	<ПО	<ПО	–	–	–
	1	1,02 ± 0,02	1,04 ± 0,03	3,47	1,22	2
	10	10,4 ± 0,4	9,8 ± 0,3	4,21	1,45	4

Таблица 47 – Результаты определения меди в пищевых маслах (n = 5, P = 0,95, F = 5,05, t = 2,78)

Тип масла	Концентрация, мкг/кг			F-критерий	t-критерий	Относительное смещение, %
	Введено, мкг/кг	Разработанная процедура	Независимая процедура			
Подсолнечное	0	<ПО	<ПО	–	–	–
	1	0,93 ± 0,03	0,95 ± 0,03	4,93	1,13	7
	10	10,7 ± 0,6	10,4 ± 0,3	3,71	2,69	7
Рапсовое	0	<ПО	<ПО	–	–	–
	1	1,03 ± 0,04	1,05 ± 0,03	3,16	2,33	3
	10	10,21 ± 0,21	10,3 ± 0,3	2,67	0,95	2
Оливковое	0	<ПО	<ПО	–	–	–
	1	1,04 ± 0,05	1,06 ± 0,04	4,41	0,87	4
	10	10,5 ± 0,21	9,9 ± 0,4	4,34	2,21	5

Таким образом, была предложена новая схема проточного анализа жидкостной микроэкстракции для определения свинца и меди в растительных маслах методом атомно-абсорбционной спектрометрии с электротермической атомизацией. Схема включала автоматизированное извлечение аналитов в фазу тройного эвтектического растворителя на основе хлорида холина, молочной кислоты и воды. Молочная кислота в экстрагенте действует как лиганд для реакционной микроэкстракции. Вода в составе экстрагента позволила существенно снизить его вязкость для реализации автоматизированной микроэкстракции с использованием принципов проточного анализа. Разработанный способ позволил устранить ручные процедуры пробоподготовки и этап центрифугирования при выполнении микроэкстракции, а также позволил отказаться от метода микроволновой минерализации пробы. Однако данная схема преимущественно ориентирована на анализ органических матриц, таких как пищевые масла, что ограничивает ее возможности при анализе водных проб. Поэтому для расширения аналитических возможностей была предложена автоматизированная схема реакционной ДЖМЭ для анализа водных проб на примере напитков для определения в них тяжелого металла – Cr (VI) с применением гидрофильного ЭР в качестве диспергатора. Это позволило не только эффективно автоматизировать вариант реакционной жидкостной микроэкстракции с образованием ионного ассоциата аналита с компонентом ЭР, но и добиться существенного сокращения времени анализа за счет использования ЭР в качестве диспергатора (Рисунок 85).

Предлагаемый подход был использован для извлечения и определения содержания хрома (VI) в напитках методом молекулярной спектрометрии.

Для извлечения аналита использовали смешанный раствора экстрагента, фотометрического реагента и диспергатора. В качестве экстрагента использовали длинноцепочечный спирт, в качестве фотометрического реагента – 1,5-дифенилкарбазид, а в качестве диспергатора – гидрофильный ЭР, состоящий из тетрабутиламмония бромид и муравьиной кислоты.

Согласно предложенной процедуре, на первом этапе экстракционную смесь и пробу подавали последовательно в шприц проточной системы, где перемешивали вкладышем магнитной мешалки и затем выдерживали паузу для разделения фаз. После этого верхнюю фазу, содержащую окрашенный ионный ассоциат, переносили в проточную ячейку спектрофотометра, и измеряли оптическую плотность в условиях остановленного потока. Пробу отправляли на сброс, а проточную систему промывали изопропиловым спиртом и измерение повторяли для следующей пробы.

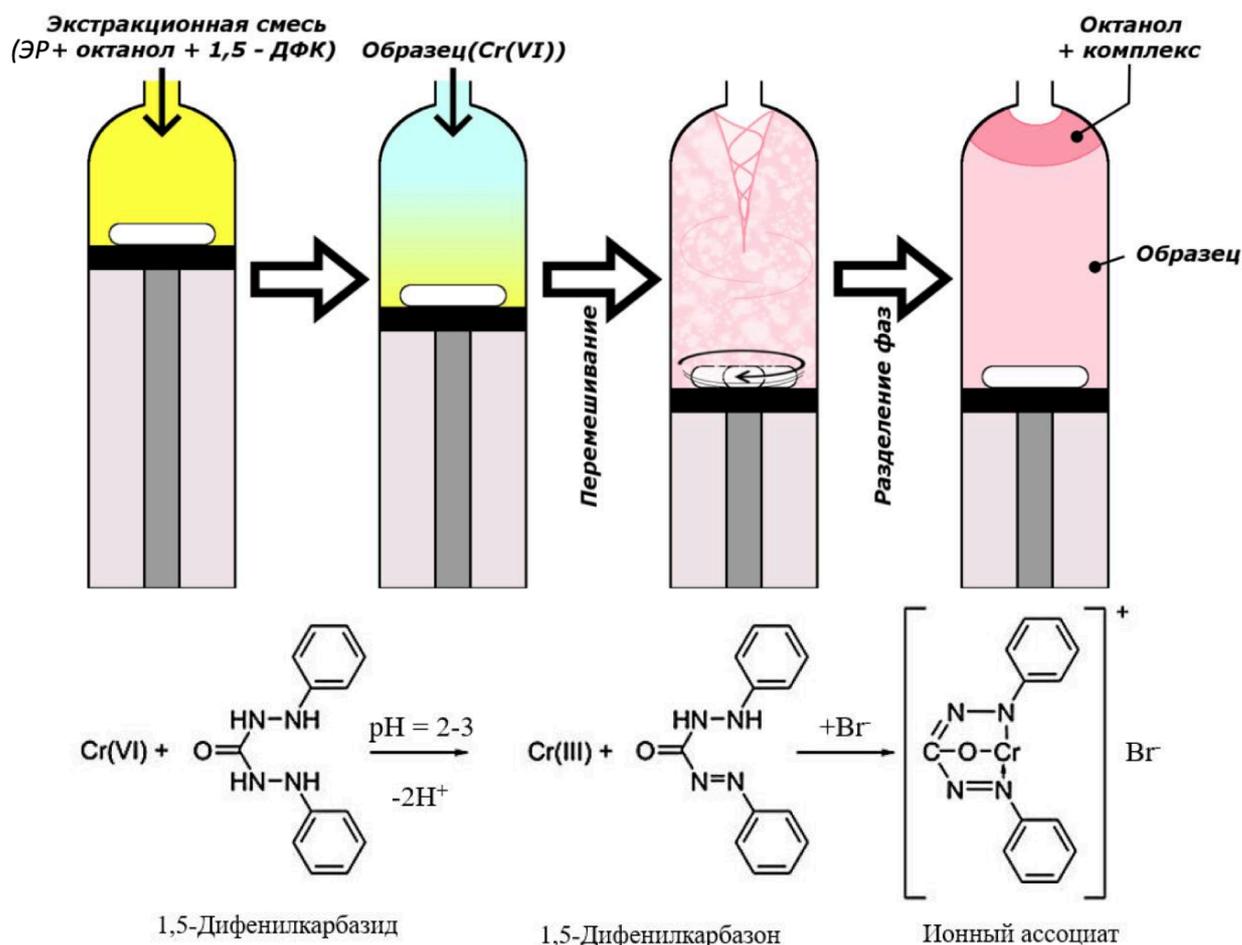


Рисунок 85 – Автоматизированная схема реакционной микроэкстракции хрома (VI) из напитков в октанол в присутствии ЭР в качестве диспергатора

Так как важной задачей реализации химического анализа является в том числе его высокая скорость и производительность, в данной работе акцент был сделан как реализацию реакционной микроэкстракции с компонентом ЭР, так и на экспрессность анализа. Для этого было решено совместить процессы образования аналитической формы аналита (ионного ассоциата) и его экстракции. А для ускорения процесса экстракции, помимо механического перемешивания фаз пробы и экстрагента, в систему был введен ЭР в качестве диспергатора, который позволил повысить экспрессность процесса за счет более эффективного диспергирования фазы экстрагента в фазе пробы. Для подтверждения эффективности данного процесса в данном исследовании были изучены два режима автоматизированной ДЖМЭ: без диспергатора и с использованием диспергатора. В первом случае (без диспергатора) 0,2 мл октанола (экстрагента), содержащего 1,5-дифенилкарбазид (6 г/л) (фотометрического реагента), 0,2 мл муравьиной кислоты и 4 мл раствора хрома (VI) (40 мкг/л) (проба), содержащего натрий додецилсульфат (20 г/л), перемешивали внутри шприца проточной системы с помощью вкладыша магнитной мешалки. Натрий додецилсульфат использовался в качестве противоиона для образования ионного ассоциата. Во втором случае (с использованием ЭР в качестве диспергатора) 0,7 мл экстракционной смеси (0,2 мл октанола, содержащего 1,5-дифенилкарбазид (6 г/л) и 0,5 мл ЭР (тетрабутиламмония бромид/муравьиная кислота в мольном соотношении 1/2) и 4 мл раствора хрома (VI) (40 мкг/л), содержащего натрия додецилсульфат (20 г/л), также перемешивали в шприце проточной системы. Во всех случаях смеси перемешивали с помощью магнитной мешалки от 30 до 180 сек и измеряли оптическую плотность фазы экстракта. Было установлено, что ЭР как диспергатор способствовал более быстрой кинетике экстракции (Рисунок 86). В этом случае 60 сек было достаточно для достижения равновесия. ЭР разрушался в водной фазе, что приводило к более эффективному диспергированию экстрагента, окислению 1,5-дифенилкарбазида до 1,5-дифенилкарбазона в присутствии хрома (VI) и образованию окрашенного

комплекса хрома (III) с 1,5-дифенилкарбазоном и его извлечению. Кроме того, бромид ион, генерируемый из тетрабутиламмония бромида в процессе экстракции, был использован в качестве противоиона для образования ионного ассоциата аналита, что позволило отказаться от использования додецилсульфат натрия. Это повысило степень извлечения аналита, а также сократило время, необходимое для разделения фаз, за счет отсутствия ПАВ в системе.

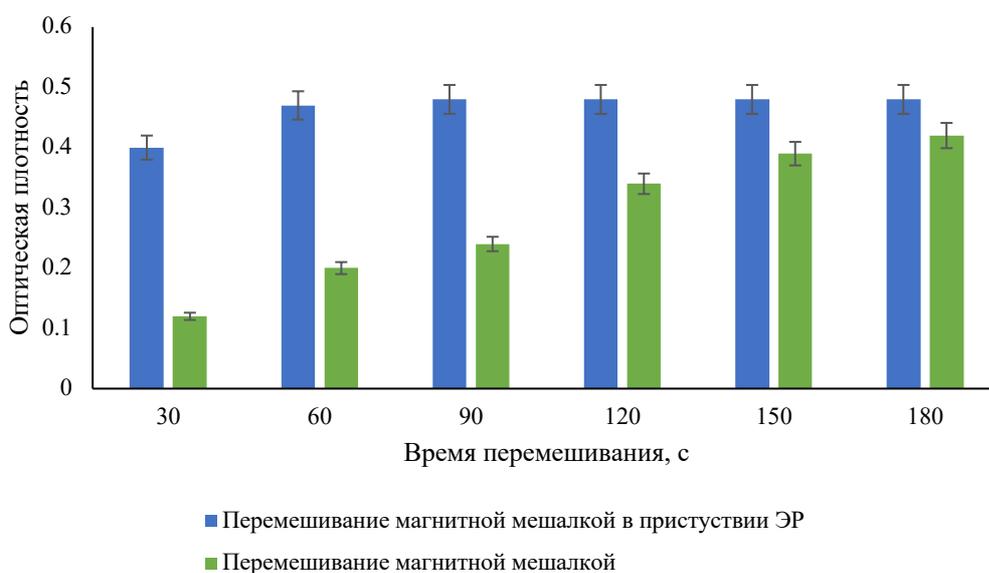


Рисунок 86 – Влияние способа диспергирования экстрагента на оптическую плотность экстракта. (n=3, объем образца – 4 мл, С аналита – 40 мкг/л)

В качестве экстрагента в данной работе было исследовано использование различных длинноцепочечных спиртов, таких как гексанол, гептанол, октанол и деканол. Для поиска оптимального экстрагента 0,5 мл ЭР (тетрабутиламмония бромид/муравьиная кислота в мольном соотношении 1/2) смешивали с 0,2 мл спирта, содержащего 1,5-дифенилкарбазид (6 г/л). Эту смесь использовали для экстракции хрома (VI) из 4 мл раствора, содержащего 40 мкг/л хрома (VI). Результаты показали, что октанол обеспечивал наивысшую степень извлечения среди других растворителей благодаря высокой степени родства к ионному ассоциату аналита (Рисунок 87). Это можно объяснить уменьшением растворимости спиртов в воде с увеличением

длины углеводородной цепи. С одной стороны, гексанол имеет более высокую растворимость, что приводит к увеличению растворимости ионного ассоциата в водной фазе. С другой стороны, эффективность диспергирования органической фазы снижается с уменьшением растворимости спирта, что приводит к низкой степени извлечения. Таким образом, октанол был выбран в качестве оптимального экстрагента.

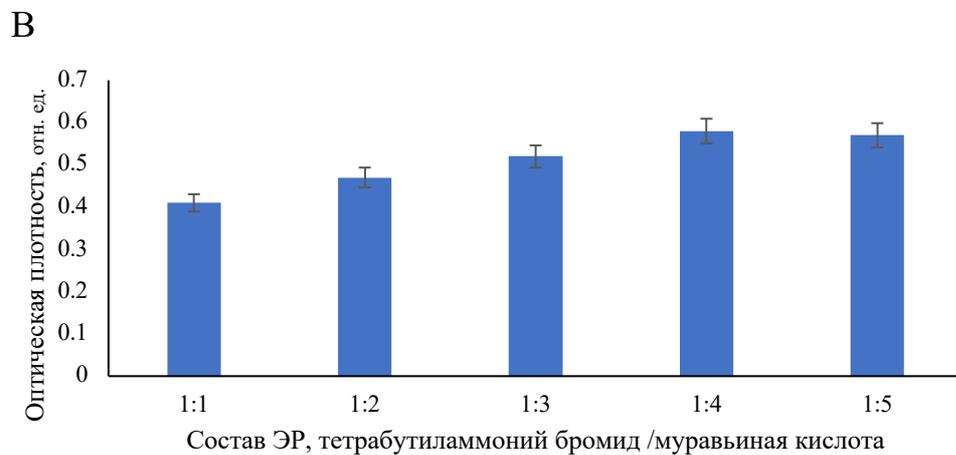
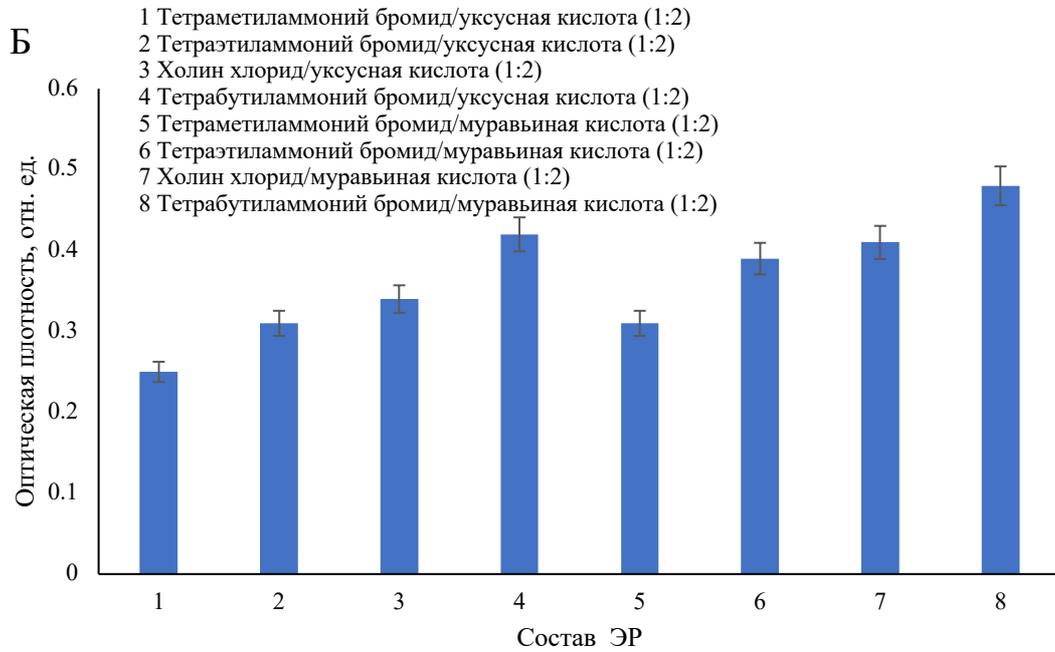
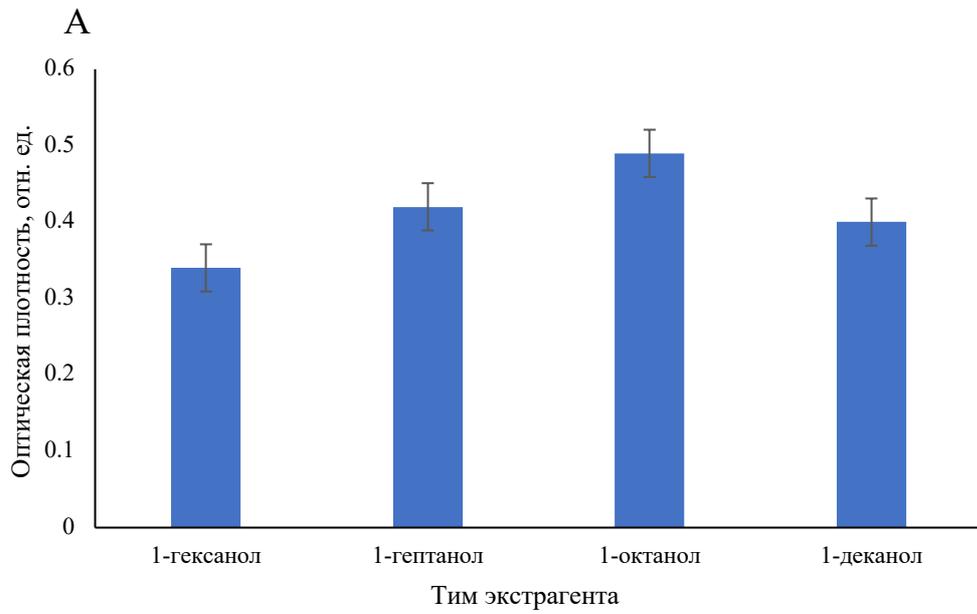
Для эффективного диспергирования экстрагента (октанола) в водной фазе были изучены несколько ЭР на основе карбоновых кислот и четвертичных аммонийных солей. Карбоновая кислота в составе ЭР также обеспечивала необходимое значение рН (1-3) для образования ионного ассоциата аналита, четвертичная аммонийная соль способствовала массопереносу между водной фазой и экстрагентом. Были исследованы четыре четвертичные аммонийные соли (тетрабутиламмоний бромид, тетраметиламмоний бромид, тетраэтиламмоний бромид и хлорид холина) и две карбоновые кислоты (муравьиная и уксусная) для изготовления ЭР. Для этого 0,7 мл экстракционной смеси (0,5 мл ЭР и 0,2 мл октанола, содержащего 1,5-дифенилкарбазид (6 г/л)) смешивали в шприце с 4 мл образца (40 мкг/л хрома (VI)). Образец и экстракционную смесь перемешивали в течение 60 сек. Было обнаружено, что с увеличением размера четвертичного аммонийного катиона эффективность степень извлечения аналита увеличивается (Рисунок 87).

Максимальное значение оптической плотности экстракта было достигнуто при использовании муравьиной кислоты как компонента ЭР на основе тетрабутил аммония бромида. Это можно объяснить более сильным кислотным характером муравьиной кислоты ($pK_a = 3,74$) по сравнению с уксусной кислотой ($pK_a = 4,76$), что создает более оптимальные условия для образования ионного ассоциата.

Влияние мольного соотношения тетрабутиламмония бромида и муравьиной кислоты в составе ЭР на степень извлечения также было изучено. Мольное соотношение варьировалось от 1/1 до 1/5. Было показано, что

увеличение доли муравьиной кислоты в фазе ЭР до соотношения 1/4 приводило к увеличению оптической плотности экстракта (Рисунок 87). Дальнейшее изменение состава ЭР не приводило к значительному изменению оптической плотности. Это связано с оптимальным значением кислотности среды и оптимальным содержанием тетрабутиламмония бромида в фазе пробы после экстракции.

Для достижения наибольшего коэффициента концентрирования объем октанола варьировался от 0,1 мл до 0,25 мл при объеме ЭР 0,5 мл. Было обнаружено, что объем октанола 0,1 мл обеспечивал максимальное значение аналитического сигнала (Рисунок 87). Дальнейшее увеличение объема экстрагента приводило к эффекту разбавления. Для нахождения оптимального объема ЭР, 0,1 мл экстрагента растворяли в различных объемах ЭР от 0,1 мл до 0,7 мл. Было установлено, что 0,5 мл ЭР (Рисунок 87) достаточно для обеспечения эффективного диспергирования экстрагента и экстракции аналита с минимальным стандартным отклонением и минимальным временем экстракции. Влияние концентрации 1,5-дифенилкарбазида изучалось в диапазоне от 0,3 до 6 г/л в экстракционной смеси. Было показано, что оптическая плотность экстракта увеличивалась с увеличением концентрации реагента до 2 г/л, а затем оставалась постоянной.



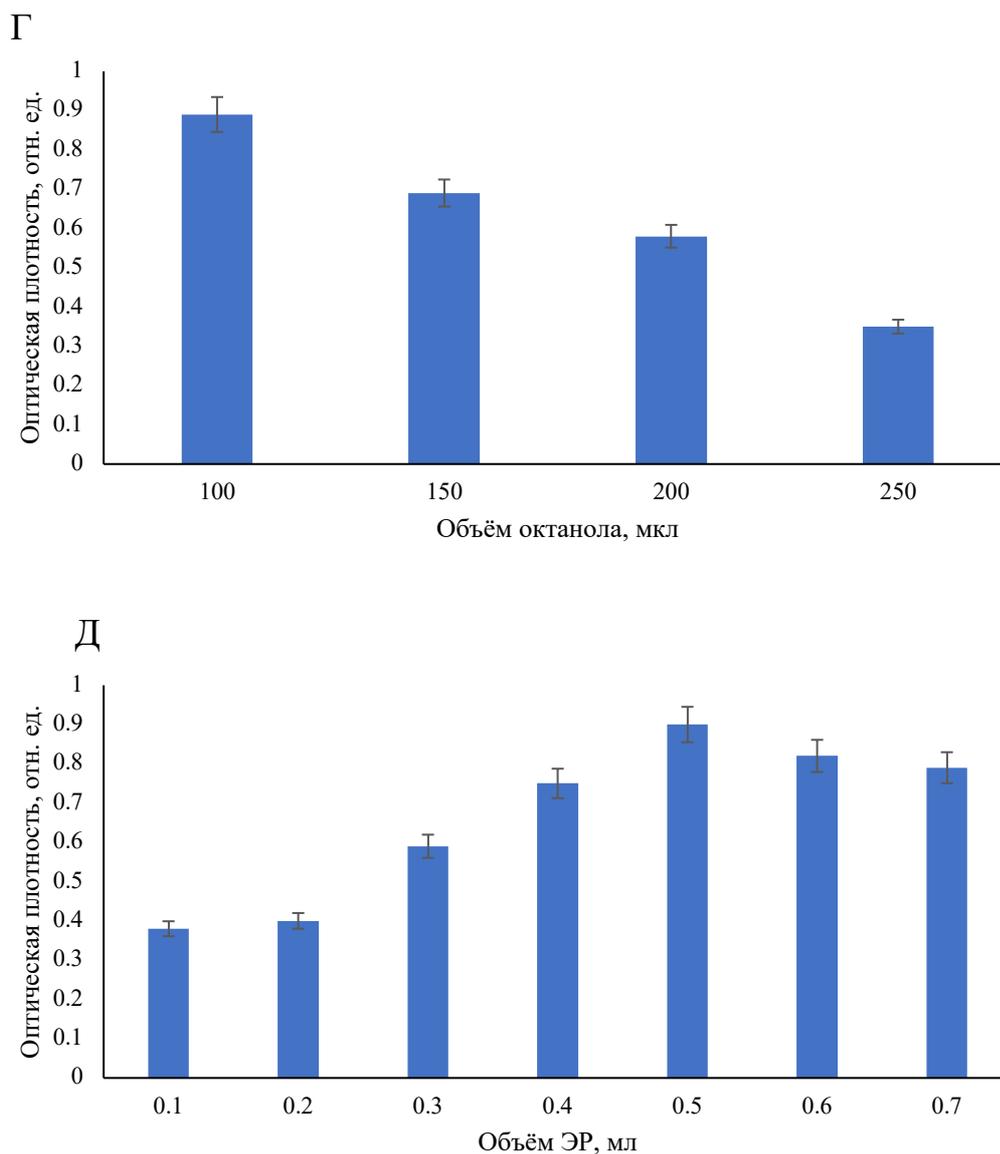


Рисунок 87 – Оптимизация процедуры микроэкстракции хрома ($n=3$, 40 мкг/л Cr (VI), объем пробы 4 мл): (А) Влияние типа экстрагента (объем ЭР 0,5 мл, объем спирта 0,2 мл), (Б) Влияние типа ЭР (объем ЭР 0,5 мл, объем октанола 0,2 мл), (В) Влияние состава ЭТ (объем ЭР 0,5 мл, объем октанола 0,2 мл), (Г) Влияние объема экстрагента (объем ЭР 0,5 мл), (Д) Влияние объема ЭР (объем октанола 0,1 мл)

Для оценки селективности процедуры было изучено влияние на оптическую плотность экстракта различных веществ, преимущественно присутствующих в пищевых продуктах, таких как K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , фруктоза, глюкоза и пищевые красители. Водные растворы,

содержащие хром (VI) в концентрации 40 мкг/л и потенциальные мешающие компоненты в различных концентрациях, анализировали согласно разработанной процедуре. Вещество оказывало мешающее влияние, если его присутствие приводило к изменению оптической плотности экстракта более чем на 5 %. В Таблице 48 показаны максимальные изученные концентрации мешающих веществ, не оказывающие мешающего влияния на степень извлечения хрома (VI).

Таблица 48 – Влияние мешающих компонентов на определения хрома в пищевых продуктах

Мешающий компонент	Допустимая концентрация, мг/л
Mg (II)	100
Ca (II)	100
Fe (II)	100
Fe (III)	100
Cu (II)	100
K (I)	100
Na (I)	100
Фруктоза	10000
Глюкоза	10000
Краситель апельсиновый жёлтый S	1000
Краситель азорубин	1000
Краситель понсо 4R	1000

Результаты валидации разработанного способа представлены в Таблице 49. Градуировочная зависимость была построена с использованием ГСО состава раствора хрома (ГСО 7834-2000). Растворы для градуировки проводили через все стадии пробоподготовки. ДОК аналита составил от 0,6 до 40 мкг/л ($R^2=0,993$). Предел обнаружения (3σ) и определения (10σ) составил 0,2 мг/л 0,6 мкг/л соответственно. Степень извлечения составила 91 %, коэффициент концентрирования – 36. Для оценки прецизионности

рассчитывали ОСКО. Значения ОСКО в условиях повторяемости и внутрилабораторной воспроизводимости составили 6 % и 10 % соответственно. Производительность анализа составила 10 образцов в час. Полученные результаты были опубликованы в работе [306].

Таблица 49 – Аналитические характеристики разработанного способа определения хрома в пищевых продуктах

Параметр	Значение
Диапазон определяемых концентраций, мкг/л	0,6-40
R^2	0,993
Предел обнаружения (3σ), мкг/л	0,2
Предел определения (10σ), мкг/л	0,6
Степень извлечения, %	91
Коэффициент концентрирования	36
Повторяемость (ОСКО, $n=3$), % ($C = 0,6/40$ мкг/л)	6/4
Внутрилабораторная воспроизводимость (ОСКО, $n=3$), % ($C = 0,6/40$ мкг/л)	10/8

Способ был применен для оценки содержания хрома в пробах пищевых продуктов (Таблица 50). Правильность результатов подтверждали методом «введено-найдено» и их сравнением с результатами, выполненными независимым способом, в качестве которого был использован метод ИСП-ОЭС с предварительной микроволновой минерализации пробы. Для этого 5 мл образца, 5 мл концентрированной HNO_3 и 1 мл H_2O_2 помещали во флаконы для минерализации и оставляли на 30 мин. Минерализацию образцов проводили в лабораторной микроволновой печи при $190\text{ }^\circ\text{C}$ и максимальной мощности 1000 Вт в течение 30 мин. После охлаждения минерализаты переносили в мерные колбы и разбавляли дистиллированной водой до 25 мл для анализа методом ИСП-ОЭС.

Разработанная процедура была применена для определения хрома (VI) в шести различных образцах напитков (Таблица 50). Все образцы были

предварительно профильтрованы. Во всех образцах содержание аналита было ниже предела обнаружения. Образцы с добавкой были получены путем добавления 0,1 мл соответствующего количества стандартного раствора хрома (VI) к 9,9 мл образца. Результаты определения концентрации аналита хорошо согласуются с результатами, полученными с помощью независимой процедуры. Значения $F \leq 9.28$ указывают на незначительное различие в точности между разработанными и референтными процедурами на уровне доверия 95%. Значения $t \leq 3.18$ указывают на незначительное различие между результатами, полученными с использованием этих методов ($n = 4$).

Таблица 50 – Результаты определения хрома в напитках ($n = 4$, $P = 0,95$; $F_k = 9,28$; $t_k = 3,18$)

Образец	Введено, мкг/л	Найдено, мкг/л		t-критерий	F-критерий	Относительное смещение, %
		Разработанный способ	Независимый способ			
Яблочный сок	0	<ПО	<ПО	–	–	–
	5	$5,07 \pm 0,04$	$5,21 \pm 0,01$	1,28	4,84	1
Вишнёвый сок	0	<ПО	<ПО	–	–	–
	10	$9,82 \pm 0,05$	$9,12 \pm 0,01$	2,03	6,12	2
Негазированная вода	0	<ПО	<ПО	–	–	–
	10	$9,91 \pm 0,04$	$9,41 \pm 0,01$	1,09	5,12	1
Газированная вода	0	<ПО	<ПО	–	–	–
	20	$19,67 \pm 0,03$	$19,22 \pm 0,01$	2,89	7,56	2
Газированный напиток 1	0	<ПО	<ПО	–	–	–
	20	$20,16 \pm 0,02$	$19,65 \pm 0,02$	1,36	4,51	1
Газированный напиток 2	0	<ПО	<ПО	–	–	–
	20	$20,07 \pm 0,02$	$19,15 \pm 0,02$	1,99	6,12	1

Таким образом, был разработан новый подход к автоматизированной дисперсионной жидкостной микроэкстракции с использованием эвтектического растворителя в качестве диспергатора при реализации автоматизированной микроэкстракции с использованием проточного метода

анализа лаборатория-в-шприце. ЭР, содержащий тетрабутиламмоний бромид и муравьиную кислоту, был исследован в качестве диспергирующего растворителя для ДЖМЭ хрома (VI) из напитков. Было показано, что ЭР способствовал диспергированию фазы экстрагента, что приводило к быстрой кинетике экстракции и высокой степени извлечения аналита, а также ЭР был источником противоиона для образования ионного ассоциата аналита, что позволило отказаться от использования ПАВ. В данном разделе была показана принципиальная возможность использования ЭР в качестве экстрагентов и диспергаторов при реализации автоматизированной жидкостной микроэкстракции аналитов в условиях проточного анализа. Основные закономерности эффективного использования ЭР в проточных методах заключаются как в необходимости правильного подбора компонентов ЭР, которые открывают возможности для селективного и эффективного извлечения аналитов, так и в необходимости использования низковязких ЭР, которые могут быть интегрированы в проточные методы, где вязкость определяет скорости реализации процессов экстракции, а также влияет на перемещение экстрагентов внутри проточной системы.

Глава 8. Общие рекомендации по выбору прекурсоров для изготовления эвтектических растворителей

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что при выборе прекурсоров ЭР для их применения в ЖМЭ следует обращать внимание на природу выделяемых веществ (1), на природу матричных компонентов объектов анализа (2), и на особенности применяемых методов анализа экстрактов (3).

Для извлечения неполярных аналитов, таких как бисфенолы ($\lg K_{ow}$ 2,91-3,32), наибольшую степень извлечения обеспечивают гидрофобные ЭР на основе природных терпеноидов (тимол ($\lg K_{ow}$ 3,2) и ментол ($\lg K_{ow}$ 3,4)), а также длинноцепочечных жирных кислот ($\lg K_{ow}$ 2,43-3,96) и жирных спиртов ($\lg K_{ow}$ 1,94-4,06). Это обусловлено более низкой полярностью и стабильностью данных ЭР при контакте с водной фазой. Для извлечения более полярных аналитов, таких как сульфаниламиды ($\lg K_{ow}$ 0,4-0,9) или ионных ассоциатов (на основе тетрабутиламмония бромида) следует применять квазигидрофобные ЭР на основе четвертичных аммониевых соединений, например тетрабутиламмония бромида ($\lg K_{ow}$ 2,0) и жирных кислот с более короткой углеводородной цепью, например, гексановой ($\lg K_{ow}$ 1,65). Для извлечения металлов из твердых проб или неполярных матриц возможно применение квазигидрофобных ЭР на основе терпеноидов и полярных карбоновых кислот (муравьиной ($\lg K_{ow}$ -0,54), уксусной ($\lg K_{ow}$ -0,28)) или гидрофильных ЭР на основе холина хлорида ($\lg K_{ow}$ -5,16) и водорастворимых соединений, таких как карбоновые кислоты, спирты, сахара, производные мочевины.

Компоненты матрицы пробы (жиры и жирные кислоты) могут применяться для *in situ* образования гидрофобных ЭР. Это становится возможным при использовании в качестве прекурсора ЭР – природного терпеноида.

Экстракты на основе ЭР совместимы со многими физико-химическими методами анализа. В случае использования метода газовой хроматографии

рекомендуется использовать более летучие прекурсоры ЭР, например тимол и ментол. В случае использования жидкостной хроматографии также необходимо учитывать потенциальное влияние четвертичных аммониевые соединений, так как они способны изменять времена удерживания аналитов. Также необходимо учитывать возможность попадания компонентов ЭР в масс-спектрометр в случае использования метода ВЭЖХ-МС, так как они способны к ионизации, тем самым создавая высокий уровень фонового сигнала. Для устранения мешающего влияния компонентов ЭР применяется рекстракция аналитов. В случае методов ААС и АЭС необходимо разбавлять экстракты для снижения фонового сигнала.

Автор выносит на защиту следующие результаты:

1. Предложены новый тип экстрагентов на основе ЭР для извлечения, концентрирования и определения полярных и неполярных веществ в объектах со сложной матрицей, открывающий новые возможности для реализации более эффективного и селективного химического анализа.
2. Установлены закономерности поведения ЭР при контакте с водной и органической фазами. На основании полученных закономерностей доказано, что ЭР на основе природных терпеноидов и четвертичных аммониевых соединений при контакте с водной и органической фазами разрушаются в случае, когда в состав ЭР входят одновременно полярный и неполярный компоненты, а также показано образование насыщенных водой ЭР, в состав которых входят только неполярные компоненты при контакте с водной фазой. В случае ЭР на основе холина хлорида и карбоновых кислот введение воды в их состав до 50 % не приводит к разрушению их структуры, наблюдается образование трехкомпонентных ЭР, вязкость которых существенно уменьшается, что позволяет использовать подобные системы в качестве экстрагентов, в том числе в проточном анализе. Кроме того, вода в составе ЭР на основе холина хлорида и карбоновых кислот увеличивает степени извлечения металлов из твердофазных и жидкофазных проб. Доказано разрушение ЭР на основе холина хлорида и фенола при контакте с водной фазой, что исключает его применение в качестве экстрагента при анализе водных проб. Полученные закономерности позволяют обоснованно выбрать компоненты ЭР для ЖМЭ из водных и органических фаз. На основании полученных результатов исследования стабильности различных ЭР при контакте с водной и органической фазами представлена их новая классификация – ЭР предложено разделять на гидрофильные (1), гидрофобные (2) и квазигидрофобные (3).
3. На основании полученных результатов об устойчивости ЭР предложены новые высокоэффективные способы ДЖМЭ, основанные на разрушении

ЭР в вводной или органической фазах или диспергировании экстрагента в присутствии ЭР, которые позволили повысить степени извлечения полярных и неполярных аналитов. Для подготовки проб сложного состава разработаны способы ЖМЭ, основанные на *in situ* образовании ЭР в растворах и на мембранах с участием матричных компонентов проб и аналитов, которые обеспечивают возможность повышения экспрессности, селективности и миниатюризации.

4. Изучено влияние природы компонентов ЭР на основе холина хлорида, карбоновых кислот, сахаров, спиртов, мочевины и ее производных на выделение металлов из жидких и твердофазных проб. Показано, что природа как донора, так и акцептора водородной связи влияет на степени извлечения металлов, а также установлено, что карбоновые кислоты в составе ЭР обеспечивают более эффективное извлечение аналитов. Установлено, что в случае использования ЭР на основе карбоновых кислот и холина хлорида экстракция переходных металлов протекает за счет формирования смешанных комплексов, в образовании которых участвует оба компонента ЭР.
5. Предложены новые способы автоматизированной реакционной ЖМЭ полярных аналитов в ЭР на основе проточных методов, которые позволили снизить трудозатраты и повысить прецизионность анализа.
6. Изучены процессы извлечения органических (сульфаниламиды, нестероидные противовоспалительные препараты, полифенольные соединения, бисфенолы, фенол и его производные) и неорганических аналитов из таких объектах, как пищевых продукты, биомедицинские объекты в различные классы ЭР. Показано, что решающее влияние на эффективность экстракции оказывает природа компонентов ЭР.

Список литературы

1. Abbott, A. P. Deep Eutectic Solvents Formed between Choline Chloride and Carboxylic Acids: Versatile Alternatives to Ionic Liquids / A. P. Abbott, D. Boothby, G. Capper [et al.] // Journal of the American Chemical Society. – 2004. – V. 126. – № 29. – P. 9142-9147.
2. Abbott, A. P. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures / A. P. Abbott, G. Capper, D. L. Davies [и др.] // Chemical Communications. – 2003. – № 1. – P. 70-71.
3. Płotka-Wasyłka, J. Deep eutectic solvents vs ionic liquids: Similarities and differences / J. Płotka-Wasyłka, M. De La Guardia, V. Andruch, M. Vilková // Microchemical Journal. – 2020. – V. 159. – P. 105539.
4. Wei, J. An ultrasound-assisted extraction using an alcohol-based hydrophilic natural deep eutectic solvent for the determination of five flavonoids from *Platycladi Cacumen* / J. Wei, G. Zhao, G. Wu [et al.] // Microchemical Journal. – 2024. – V. 198. – P. 110076.
5. Radošević, K. Evaluation of toxicity and biodegradability of choline chloride based deep eutectic solvents / K. Radošević, M. Cvjetko Bubalo, V. Gaurina Srček [et al.] // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2015. – V. 112. – P. 46-53.
6. Florindo, C. Insights into the Synthesis and Properties of Deep Eutectic Solvents Based on Cholinium Chloride and Carboxylic Acids / C. Florindo, F. S. Oliveira, L. P. N. Rebelo [et al.] // ACS Sustainable Chemistry & Engineering. – 2014. – V. 2. – № 10. – P. 2416-2425.
7. Yadav, A. Densities and Viscosities of (Choline Chloride + Urea) Deep Eutectic Solvent and Its Aqueous Mixtures in the Temperature Range 293.15

- K to 363.15 K / A. Yadav, S. Pandey // *Journal of Chemical & Engineering Data*. – 2014. – V. 59. – № 7. – P. 2221-2229.
8. Hammond, O. S. Liquid structure of the choline chloride-urea deep eutectic solvent (reline) from neutron diffraction and atomistic modelling / O. S. Hammond, D. T. Bowron, K. J. Edler // *Green Chemistry*. – 2016. – V. 18. – № 9. – P. 2736-2744.
 9. Abbott, A. P. Glycerol eutectics as sustainable solvent systems / A. P. Abbott, R. C. Harris, K. S. Ryder [et al.] // *Green Chem.* – 2011. – V. 13. – № 1. – P. 82-90.
 10. AlOmar, M. K. Glycerol-based deep eutectic solvents: Physical properties / M. K. AlOmar, M. Hayyan, M. A. Alsaadi [et al.] // *Journal of Molecular Liquids*. – 2016. – V. 215. – P. 98-103.
 11. Qin, H. Overview of acidic deep eutectic solvents on synthesis, properties and applications / H. Qin, X. Hu, J. Wang [et al.] // *Green Energy & Environment*. – 2020. – V. 5. – № 1. – P. 8-21.
 12. Sirviö, J. A. Acidic Deep Eutectic Solvents As Hydrolytic Media for Cellulose Nanocrystal Production / J. A. Sirviö, M. Visanko, H. Liimatainen // *Biomacromolecules*. – 2016. – V. 17. – № 9. – P. 3025-3032.
 13. Hayyan, A. Fruit sugar-based deep eutectic solvents and their physical properties / A. Hayyan, F. S. Mjalli, I. M. AlNashef [et al.] // *Thermochimica Acta*. – 2012. – V. 541. – P. 70-75.
 14. Li, R. Sustainable aqueous biphasic system created using sugar-based deep eutectic solvents/ethyl lactate for the green extraction of biomolecules / R. Li, K. Kang, J. Li [et al.] // *Journal of Molecular Liquids*. – 2024. – V. 399. – P. 124474.

15. Koh, Q. Q. Sugar-based natural deep eutectic solvent (NADES): Physicochemical properties, antimicrobial activity, toxicity, biodegradability and potential use as green extraction media for phytonutrients / Q. Q. Koh, Y. L. Kua, S. Gan [et al.] // *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. – 2023. – V. 35. – P. 101218.
16. Schulz, A. Rotational dynamics, ionic conductivity, and glass formation in a ZnCl₂-based deep eutectic solvent / A. Schulz, P. Lunkenheimer, A. Loidl // *The Journal of Chemical Physics*. – 2024. – V. 160. – № 5. – P. 054502.
17. Faizan, M. Copper-based deep eutectic solvents (Cu-DES) assisted the VPO catalyst as a structural and electronic promoter for n-butane selective oxidation / M. Faizan, H. Li, Y. Liu [et al.] // *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. – 2022. – V. 114. – P. 518-535.
18. Riadi, Y. Green, rapid and efficient synthesis of new antibacterial pyridopyrimidinone mediated by eutectic mixture of Urea/CuCl₂ / Y. Riadi // *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. – 2020. – V. 15. – P. 100233.
19. Jeong, K. M. Highly efficient extraction of anthocyanins from grape skin using deep eutectic solvents as green and tunable media / K. M. Jeong, J. Zhao, Y. Jin [et al.] // *Archives of Pharmacal Research*. – 2015. – V. 38. – № 12. – P. 2143-2152.
20. Piemontese, L. Deep Eutectic Solvents as Novel and Effective Extraction Media for Quantitative Determination of Ochratoxin A in Wheat and Derived Products / L. Piemontese, F. Perna, A. Logrieco [et al.] // *Molecules*. – 2017. – V. 22. – № 1. – P. 121.
21. Karimi, M. Deep eutectic liquid organic salt as a new solvent for liquid-phase microextraction and its application in ligandless extraction and preconcentration of lead and cadmium in edible oils / M. Karimi, S. Dadfarnia, A. M. H. Shabani [et al.] // *Talanta*. – 2015. – V. 144. – P. 648-654.

22. Ma, W. Characterization of Deep Eutectic Solvents for Dispersive Liquid–Liquid Microextraction for Phenolics / W. Ma, W. Tang, K. H. Row // *Analytical Letters*. – 2017. – V. 50. – № 14. – P. 2177-2188.
23. Wei, Z. Application of natural deep eutectic solvents for extraction and determination of phenolics in *Cajanus cajan* leaves by ultra performance liquid chromatography / Z. Wei, X. Qi, T. Li [et al.] // *Separation and Purification Technology*. – 2015. – V. 149. – P. 237-244.
24. Patsea, M. Screening of Natural Sodium Acetate-Based Low-Transition Temperature Mixtures (LTTMs) for Enhanced Extraction of Antioxidants and Pigments from Red Vinification Solid Wastes / M. Patsea, I. Stefou, S. Grigorakis, D. P. Makris // *Environmental Processes*. – 2017. – V. 4. – № 1. – P. 123-135.
25. Yu, G.-W. Microwave Hydrodistillation Based on Deep Eutectic Solvent for Extraction and Analysis of Essential Oil from Three *Amomum* Species Using Gas Chromatography–Mass Spectrometry / G.-W. Yu, Q. Cheng, J. Nie [et al.] // *Chromatographia*. – 2018. – V. 81. – № 4. – P. 657-667.
26. Riaño, S. Separation of rare earths and other valuable metals from deep-eutectic solvents: a new alternative for the recycling of used NdFeB magnets / S. Riaño, M. Petranikova, B. Onghena [et al.] // *RSC Advances*. – 2017. – V. 7. – № 51. – P. 32100-32113.
27. Bai, C. Selective Extraction of Collagen Peptides with High Purity from Cod Skins by Deep Eutectic Solvents / C. Bai, Q. Wei, X. Ren // *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. – 2017. – V. 5. – № 8. – P. 7220-7227.
28. Panhwar, A. H. Ultrasonic assisted dispersive liquid-liquid microextraction method based on deep eutectic solvent for speciation, preconcentration and determination of selenium species (IV) and (VI) in water and food samples /

- A. H. Panhwar, M. Tuzen, T. G. Kazi // *Talanta*. – 2017. – V. 175. – P. 352-358.
29. Van Osch, D. J. G. P. Hydrophobic deep eutectic solvents as water-immiscible extractants / D. J. G. P. Van Osch, L. F. Zubeir, A. Van Den Bruinhorst [et al.] // *Green Chemistry*. – 2015. – V. 17. – № 9. – P. 4518-4521.
30. Zhu, S. Liquid–liquid microextraction of synthetic pigments in beverages using a hydrophobic deep eutectic solvent / S. Zhu, J. Zhou, H. Jia, H. Zhang // *Food Chemistry*. – 2018. – V. 243. – P. 351-356.
31. Li, T. Hydrophobic deep eutectic solvents as extractants for the determination of bisphenols from food-contacted plastics by high performance liquid chromatography with fluorescence detection / T. Li, Y. Song, Z. Dong [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2020. – V. 1621. – P. 461087.
32. Ji, Y. Eco-friendly ultrasonic assisted liquid–liquid microextraction method based on hydrophobic deep eutectic solvent for the determination of sulfonamides in fruit juices / Y. Ji, Z. Meng, J. Zhao [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2020. – V. 1609. – P. 460520.
33. Golpayegani, M. R. Sensitive determination of vincristine in plasma of children with leukaemia using vortex-assisted dispersive liquid–liquid microextraction based on hydrophobic deep eutectic solvent / M. R. Golpayegani, R. Akramipour, S. Gheini [et al.] // *RSC Advances*. – 2022. – V. 12. – № 6. – P. 3611-3617.
34. Gissawong, N. A rapid and simple method for the removal of dyes and organophosphorus pesticides from water and soil samples using deep eutectic solvent embedded sponge / N. Gissawong, S. Mukdasai, S. Boonchiangma [et al.] // *Chemosphere*. – 2020. – V. 260. – P. 127590.

35. Phelps, T. E. Efficient and Selective Extraction of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ from Aqueous Media Using Hydrophobic Deep Eutectic Solvents / T. E. Phelps, N. Bhawawet, S. S. Jurisson, G. A. Baker // *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. – 2018. – V. 6. – № 11. – P. 13656-13661.
36. Ribeiro, B. D. Menthol-based Eutectic Mixtures: Hydrophobic Low Viscosity Solvents / B. D. Ribeiro, C. Florindo, L. C. Iff [et al.] // *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. – 2015. – V. 3. – № 10. – P. 2469-2477.
37. Abranches, D. O. Phenolic hydrogen bond donors in the formation of non-ionic deep eutectic solvents: the quest for type V DES / D. O. Abranches, M. A. R. Martins, L. P. Silva [et al.] // *Chemical Communications*. – 2019. – V. 55. – № 69. – P. 10253-10256.
38. Makoś-Chełstowska, P. Superhydrophobic sponges based on green deep eutectic solvents for spill oil removal from water / P. Makoś-Chełstowska, E. Słupek, A. Małachowska // *Journal of Hazardous Materials*. – 2022. – V. 425. – P. 127972.
39. Schaeffer, N. Sustainable hydrophobic terpene-based eutectic solvents for the extraction and separation of metals / N. Schaeffer, M. A. R. Martins, C. M. S. S. Neves [et al.] // *Chemical Communications*. – 2018. – V. 54. – № 58. – P. 8104-8107.
40. Fan, C. Terpenoid-capric acid based natural deep eutectic solvent: Insight into the nature of low viscosity / C. Fan, T. Sebbah, Y. Liu, X. Cao // *Cleaner Engineering and Technology*. – 2021. – V. 3. – P. 100116.
41. Viñas-Ospino, A. Improving carotenoid extraction, stability, and antioxidant activity from *Citrus sinensis* peels using green solvents / A. Viñas-Ospino, D. López-Malo, M. J. Esteve [et al.] // *European Food Research and Technology*. – 2023. – V. 249. – № 9. – P. 2349-2361.

42. Yan, J. Hydrophobic deep eutectic solvent-based ultrasonic-assisted liquid-liquid microextraction combined with GC for eugenol, isoeugenol, and methyl isoeugenol determination in aquatic products / J. Yan, S. Ma, M. Feng [et al.] // *Food Additives & Contaminants: Part A*. – 2022. – V. 39. – № 10. – P. 1718-1730.
43. Viñas-Ospino, A. Green approach to extract bioactive compounds from orange peel employing hydrophilic and hydrophobic deep eutectic solvents / A. Viñas-Ospino, M. Panić, M. Bagović [et al.] // *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. – 2023. – V. 31. – P. 100942.
44. Martins, M. A. R. Greener Terpene–Terpene Eutectic Mixtures as Hydrophobic Solvents / M. A. R. Martins, L. P. Silva, N. Schaeffer [et al.] // *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. – 2019. – V. 7. – № 20. – P. 17414-17423.
45. Makoś, P. Hydrophobic deep eutectic solvents as “green” extraction media for polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples / P. Makoś, A. Przyjazny, G. Boczkaj // *Journal of Chromatography A*. – 2018. – V. 1570. – P. 28-37.
46. Conde-Díaz, A. Assessment of endocrine disruptor pollutants and their metabolites in environmental water samples using a sustainable natural deep eutectic solvent-based analytical methodology / A. Conde-Díaz, Á. Santana-Mayor, A. V. Herrera-Herrera [et al.] // *Chemosphere*. – 2023. – V. 338. – P. 139480.
47. Majidi, S. M. Hydrophobic borneol-based natural deep eutectic solvents as a green extraction media for air-assisted liquid-liquid micro-extraction of warfarin in biological samples / S. M. Majidi, M. R. Hadjmohammadi // *Journal of Chromatography A*. – 2020. – V. 1621. – P. 461030.

48. Van Osch, D. J. G. P. A Search for Natural Hydrophobic Deep Eutectic Solvents Based on Natural Components / D. J. G. P. Van Osch, C. H. J. T. Dietz, J. Van Spronsen [et al.] // ACS Sustainable Chemistry & Engineering. – 2019. – V. 7. – № 3. – P. 2933-2942.
49. Dai, Y. Application of Natural Deep Eutectic Solvents in the Extraction of Quercetin from Vegetables / Y. Dai, K. H. Row // Molecules. – 2019. – V. 24. – № 12. – P. 2300.
50. Farooq, M. Q. Deep eutectic solvents in separations: Methods of preparation, polarity, and applications in extractions and capillary electrochromatography / M. Q. Farooq, N. M. Abbasi, J. L. Anderson // Journal of Chromatography A. – 2020. – V. 1633. – P. 461613.
51. Negi, T. Deep eutectic solvents: Preparation, properties, and food applications / T. Negi, A. Kumar, S. K. Sharma [et al.] // Heliyon. – 2024. – V. 10. – № 7. – P. e28784.
52. Crawford, D. E. Efficient continuous synthesis of high purity deep eutectic solvents by twin screw extrusion / D. E. Crawford, L. A. Wright, S. L. James, A. P. Abbott // Chemical Communications. – 2016. – V. 52. – № 22. – P. 4215-4218.
53. Chromá, R. Investigation of tetrabutylammonium bromide-glycerol-based deep eutectic solvents and their mixtures with water by spectroscopic techniques / R. Chromá, M. Vilková, I. Shepa [et al.] // Journal of Molecular Liquids. – 2021. – V. 330. – P. 115617.
54. Delso, I. NMR study of choline chloride-based deep eutectic solvents / I. Delso, C. Lafuente, J. Muñoz-Embid, M. Artal // Journal of Molecular Liquids. – 2019. – V. 290. – P. 111236.

55. Ghaedi, H. Thermal stability and FT-IR analysis of Phosphonium-based deep eutectic solvents with different hydrogen bond donors / H. Ghaedi, M. Ayoub, S. Sufian [et al.] // *Journal of Molecular Liquids*. – 2017. – V. 242. – P. 395-403.
56. D'Agostino, C. Molecular motion and ion diffusion in choline chloride based deep eutectic solvents studied by ¹H pulsed field gradient NMR spectroscopy / C. D'Agostino, R. C. Harris, A. P. Abbott [et al.] // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2011. – V. 13. – № 48. – P. 21383.
57. Зиновьева, И. В. Глубокий эвтектический растворитель на основе хлорида холина и сульфосалициловой кислоты: свойства и применение / И. В. Зиновьева, А. Я. Федоров, Н. А. Милевский [и др.] // *Теоретические основы химической технологии*. – 2021. – Т. 55. – № 3. – С. 299-308.
58. Delso, I. NMR study of choline chloride-based deep eutectic solvents / I. Delso, C. Lafuente, J. Muñoz-Embido, M. Artal // *Journal of Molecular Liquids*. – 2019. – V. 290. – P. 111236.
59. Hall, C. L. Metastable crystalline phase formation in deep eutectic systems revealed by simultaneous synchrotron XRD and DSC / C. L. Hall, J. Potticary, V. Hamilton [et al.] // *Chemical Communications*. – 2020. – V. 56. – № 73. – P. 10726-10729.
60. Delgado-Mellado, N. Thermal stability of choline chloride deep eutectic solvents by TGA/FTIR-ATR analysis / N. Delgado-Mellado, M. Larriba, P. Navarro [et al.] // *Journal of Molecular Liquids*. – 2018. – V. 260. – P. 37-43.
61. Ali, H. H. New insight into single phase formation of capric acid/menthol eutectic mixtures by Fourier-transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry / H. H. Ali, M. M. Ghareeb, M. Al-Remawi, F. T. Al-

- Akayleh // *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. – 2020. – T. 19. – № 2. – C. 361-369.
62. Hu, Y. Explore the molecular mechanism of hydrogen bond regulation in deep eutectic solvents and co-amorphous phase transitions / Y. Hu, Z. Zheng, D. Zhai [et al.] // *Journal of Molecular Liquids*. – 2024. – V. 407. – P. 125207.
63. Alhadid, A. Formation of glassy phases and polymorphism in deep eutectic solvents / A. Alhadid, L. Mokrushina, M. Minceva // *Journal of Molecular Liquids*. – 2020. – V. 314. – P. 113667.
64. Naik, P. K. Physiochemical Properties and Molecular Dynamics Simulations of Phosphonium and Ammonium Based Deep Eutectic Solvents / P. K. Naik, S. Paul, T. Banerjee // *Journal of Solution Chemistry*. – 2019. – V. 48. – № 7. – P. 1046-1065.
65. Araya-Sibaja, A. M. Drug Solubility Enhancement through the Preparation of Multicomponent Organic Materials: Eutectics of Lovastatin with Carboxylic Acids / A. M. Araya-Sibaja, J. R. Vega-Baudrit, T. Guillén-Girón [et al.] // *Pharmaceutics*. – 2019. – V. 11. – № 3. – P. 112.
66. Leron, R. B. High-pressure density measurements for choline chloride: Urea deep eutectic solvent and its aqueous mixtures at T= (298.15 to 323.15) K and up to 50 MPa / R. B. Leron, M.-H. Li // *The Journal of Chemical Thermodynamics*. – 2012. – V. 54. – P. 293-301.
67. Shahbaz, K. Prediction of refractive index and density of deep eutectic solvents using atomic contributions / K. Shahbaz, F. S. G. Bagh, F. S. Mjalli [et al.] // *Fluid Phase Equilibria*. – 2013. – V. 354. – P. 304-311.
68. Shahbaz, K. Densities of ammonium and phosphonium based deep eutectic solvents: Prediction using artificial intelligence and group contribution

- techniques / K. Shahbaz, S. Baroutian, F. S. Mjalli [et al.] // *Thermochimica Acta*. – 2012. – V. 527. – P. 59-66.
69. Leron, R. B. Densities and refractive indices of the deep eutectic solvents (choline chloride + ethylene glycol or glycerol) and their aqueous mixtures at the temperature ranging from 298.15 to 333.15 K / R. B. Leron, A. N. Soriano, M.-H. Li // *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. – 2012. – V. 43. – № 4. – P. 551-557.
70. Aravena, P. Effect of water and hydrogen bond acceptor on the density and viscosity of glycol-based eutectic solvents / P. Aravena, E. Cea-Klapp, N. F. Gajardo-Parra [et al.] // *Journal of Molecular Liquids*. – 2023. – V. 389. – P. 122856.
71. Li, C. Densities and viscosities of, and solubilities of acidic gases (SO₂ and H₂S) in natural deep eutectic solvents / C. Li, Z. Cai, Y. Ma [et al.] // *The Journal of Chemical Thermodynamics*. – 2022. – V. 167. – P. 106713.
72. Deepika. Water Miscibility, Surface Tension, Density, and Dynamic Viscosity of Hydrophobic Deep Eutectic Solvents Composed of Capric Acid, Menthol, and Thymol / Deepika, S. Juneja, S. Pandey // *Journal of Chemical & Engineering Data*. – 2022. – V. 67. – № 11. – P. 3400-3413.
73. Yadav, A. Densities and dynamic viscosities of (choline chloride+glycerol) deep eutectic solvent and its aqueous mixtures in the temperature range (283.15–363.15)K / A. Yadav, S. Trivedi, R. Rai, S. Pandey // *Fluid Phase Equilibria*. – 2014. – V. 367. – P. 135-142.
74. Harifi-Mood, A. R. Density, viscosity, and conductivity of choline chloride + ethylene glycol as a deep eutectic solvent and its binary mixtures with dimethyl sulfoxide / A. R. Harifi-Mood, R. Buchner // *Journal of Molecular Liquids*. – 2017. – V. 225. – P. 689-695.

75. Bakhtyari, A. A simple model for the viscosities of deep eutectic solvents / A. Bakhtyari, R. Haghbakhsh, A. R. C. Duarte, S. Raeissi // *Fluid Phase Equilibria*. – 2020. – V. 521. – P. 112662.
76. Al-Dawsari, J. N. Fitting of experimental viscosity to temperature data for deep eutectic solvents / J. N. Al-Dawsari, A. Bessadok-Jemai, I. Wazeer [et al.] // *Journal of Molecular Liquids*. – 2020. – V. 310. – P. 113127.
77. Lemaoui, T. Prediction of Electrical Conductivity of Deep Eutectic Solvents Using COSMO-RS Sigma Profiles as Molecular Descriptors: A Quantitative Structure–Property Relationship Study / T. Lemaoui, A. S. Darwish, N. E. H. Hammoudi [et al.] // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. – 2020. – V. 59. – № 29. – P. 13343-13354.
78. Agieienko, V. Densities, Viscosities, and Electrical Conductivities of Pure Anhydrous Reline and Its Mixtures with Water in the Temperature Range (293.15 to 338.15) K / V. Agieienko, R. Buchner // *Journal of Chemical & Engineering Data*. – 2019. – V. 64. – № 11. – P. 4763-4774.
79. Shahbaz, K. Electrical conductivity of ammonium and phosphonium based deep eutectic solvents: Measurements and artificial intelligence-based prediction / F. S. G. Bagh, K. Shahbaz, F. S. Mjalli [et al.] // *Fluid Phase Equilibria*. – 2013. – V. 356. – P. 30-37.
80. Vilková, M. The role of water in deep eutectic solvent-base extraction / M. Vilková, J. Płotka-Wasyłka, V. Andruch // *Journal of Molecular Liquids*. – 2020. – V. 304. – P. 112747.
81. Ma, C. The peculiar effect of water on ionic liquids and deep eutectic solvents / C. Ma, A. Laaksonen, C. Liu [et al.] // *Chemical Society Reviews*. – 2018. – V. 47. – № 23. – P. 8685-8720.

82. Hammond, O. S. The Effect of Water upon Deep Eutectic Solvent Nanostructure: An Unusual Transition from Ionic Mixture to Aqueous Solution / O. S. Hammond, D. T. Bowron, K. J. Edler // *Angewandte Chemie*. – 2017. – V. 129. – № 33. – P. 9914-9917.
83. Kaur, S. How Hydration Affects the Microscopic Structural Morphology in a Deep Eutectic Solvent / S. Kaur, A. Gupta, H. K. Kashyap // *The Journal of Physical Chemistry B*. – 2020. – V. 124. – № 11. – P. 2230-2237.
84. Makoś-Chełstowska, P. Closer look into the structures of tetrabutylammonium bromide–glycerol-based deep eutectic solvents and their mixtures with water / P. Makoś-Chełstowska, R. Chromá, V. Andruch // *Journal of Molecular Liquids*. – 2021. – V. 338. – P. 116676.
85. Chen, W. Investigation on the Thermal Stability of Deep Eutectic Solvents / W. Chen, Z. Xue, J. Wang [et al.] // *Acta Physico-Chimica Sinica*. – 2018. – V. 34. – № 8. – P. 904-911.
86. Chen, Y. Volatility of Deep Eutectic Solvent Choline Chloride: N - Methylacetamide at Ambient Temperature and Pressure / Y. Chen, D. Yu, Y. Lu [et al.] // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. – 2019. – V. 58. – № 17. – P. 7308-7317.
87. Chen, Y. Vaporization enthalpy, long-term evaporation and evaporation mechanism of polyethylene glycol-based deep eutectic solvents / Y. Chen, Q. Wang, Z. Liu [et al.] // *New Journal of Chemistry*. – 2020. – V. 44. – № 22. – P. 9493-9501.
88. Ghaedi, H. Thermal stability analysis, experimental conductivity and pH of phosphonium-based deep eutectic solvents and their prediction by a new empirical equation / H. Ghaedi, M. Ayoub, S. Sufian [et al.] // *The Journal of Chemical Thermodynamics*. – 2018. – V. 116. – P. 50-60.

89. Jablonsky, M. Long-term isothermal stability of deep eutectic solvents / M. Jablonsky, A. Skulcova, A. Haz, J. Sima, V. Majova, // *BioResources*. – 2018. V. – 13. – P. 7545–7559.
90. Skulcova, A. Long-term isothermal stability of deep eutectic solvents based on choline chloride with malonic or lactic or tartaric acid / A. Skulcova, V. Majova, A. Haz [et al.]. // *Int. J. Sci. Eng. Res.* – 2017. – V. 8. – № 7. – P. 2249-2252.
91. Yu, D. Eutectics: formation, properties, and applications / D. Yu, Z. Xue, T. Mu // *Chemical Society Reviews*. – 2021. – V. 50. – № 15. – P. 8596-8638.
92. Chen, Y. Thermal, chemical, electrochemical, radiolytic and biological stability of ionic liquids and deep eutectic solvents / Y. Chen, D. Yu, Z. Liu [et al.] // *New Journal of Chemistry*. – 2022. – V. 46. – № 37. – P. 17640-17668.
93. Kozhevnikova, A. V. The use of organophosphorus extractants as a component of hydrophobic deep eutectic solvents (HDES) for the processing of spent lithium-iron phosphate batteries / A. V. Kozhevnikova, D. V. Lobovich, N. A. Milevskii [et al.] // *Hydrometallurgy*. – 2024. – V. 228. – P. 106369.
94. Santos, L. B. Deep eutectic solvents in liquid-phase microextraction: Contribution to green chemistry / L. B. Santos, R. S. Assis, J. A. Barreto [et al.] // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2022. – V. 146. – P. 116478.
95. Lobovich, D. V. Extraction Kinetics of Pyridine, Quinoline, and Indole from the Organic Phase with Natural Deep Eutectic Solvents and Separation Study Using a Centrifugal Extractor / D. V. Lobovich, I. V. Zinov'eva, N. A. Milevskii [et al.] // *Processes*. – 2024. – V. 12. – № 3. – P. 488.

96. Botella, M. B. Recent advances of extraction and separation of emerging organic contaminants through the application of natural deep eutectic solvents / M. B. Botella, A. A. Lemos, C. E. Lujan [et al.] // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2024. – V. 171. – P. 117518.
97. Ahmadi, R. Liquid-liquid microextraction techniques based on in-situ formation/decomposition of deep eutectic solvents / R. Ahmadi, E. A. Azooz, Y. Yamini, A. M. Ramezani // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2023. – V. 161. – P. 117019.
98. Mukhopadhyay, S. Enhanced removal of lead from contaminated soil by polyol-based deep eutectic solvents and saponin / S. Mukhopadhyay, S. Mukherjee, A. Hayyan [et al.] // *Journal of Contaminant Hydrology*. – 2016. – V. 194. – P. 17-23.
99. De Faria, E. Deep Eutectic Solvents as Efficient Media for the Extraction and Recovery of Cynaropicrin from *Cynara cardunculus* L. Leaves / E. De Faria, R. Do Carmo, A. F. Cláudio [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2017. – V. 18. – № 11. – P. 2276.
100. Khezeli, T. Dispersive micro-solid-phase extraction of dopamine, epinephrine and norepinephrine from biological samples based on green deep eutectic solvents and Fe₃O₄ @MIL-100 (Fe) core-shell nanoparticles grafted with pyrocatechol / T. Khezeli, A. Daneshfar // *RSC Advances*. – 2015. – V. 5. – № 80. – P. 65264-65273.
101. Abbott, A. P. Electrodeposition of zinc-tin alloys from deep eutectic solvents based on choline chloride / A. P. Abbott, G. Capper, K. J. McKenzie, K. S. Ryder // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. – 2007. – V. 599. – № 2. – P. 288-294.

102. Abbott, A. P. Electrodeposition of copper composites from deep eutectic solvents based on choline chloride / A. P. Abbott, K. El Ttaib, G. Frisch [et al.] // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2009. – V. 11. – № 21. – P. 4269.
103. Whitehead, A. H. Zinc Electrodeposition from a Deep Eutectic System Containing Choline Chloride and Ethylene Glycol / A. H. Whitehead, M. Pölzler, B. Gollas // *Journal of The Electrochemical Society*. – 2010. – V. 157. – № 6. – P. D328.
104. Panzeri, G. Electrodeposition of Magnetic SmCo Films from Deep Eutectic Solvents and Choline Chloride-Ethylene Glycol Mixtures / G. Panzeri, M. Tresoldi, C. Rinaldi, L. Magagnin // *Journal of The Electrochemical Society*. – 2017. – V. 164. – № 13. – P. D930-D933.
105. Martis, P. Electro-generated nickel/carbon nanotube composites in ionic liquid / P. Martis, V. S. Dilimon, J. Delhalle, Z. Mekhalif // *Electrochimica Acta*. – 2010. – V. 55. – № 19. – P. 5407-5410.
106. Prathish, K. P. Highly sensitive poly(3,4-ethylenedioxythiophene) modified electrodes by electropolymerisation in deep eutectic solvents / K. P. Prathish, R. C. Carvalho, C. M. A. Brett // *Electrochemistry Communications*. – 2014. – V. 44. – P. 8-11.
107. Prathish, K. P. Electrochemical characterisation of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) film modified glassy carbon electrodes prepared in deep eutectic solvents for simultaneous sensing of biomarkers / K. P. Prathish, R. C. Carvalho, C. M. A. Brett // *Electrochimica Acta*. – 2016. – V. 187. – P. 704-713.
108. Da Silva, W. Novel nanocomposite film modified electrode based on poly(brilliant cresyl blue)-deep eutectic solvent/carbon nanotubes and its

- biosensing applications / W. Da Silva, M. E. Ghica, C. M. A. Brett // *Electrochimica Acta*. – 2019. – V. 317. – P. 766-777.
109. Da Silva, W. Choline oxidase inhibition biosensor based on poly(brilliant cresyl blue) – deep eutectic solvent / carbon nanotube modified electrode for dichlorvos organophosphorus pesticide / W. Da Silva, M. E. Ghica, C. M. A. Brett // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2019. – V. 298. – P. 126862.
110. Hosu, O. Nanostructured electropolymerized poly(methylene blue) films from deep eutectic solvents. Optimization and characterization / O. Hosu, M. M. Bârsan, C. Cristea [et al.] // *Electrochimica Acta*. – 2017. – V. 232. – P. 285-295.
111. Hosu, O. Nanocomposites based on carbon nanotubes and redox-active polymers synthesized in a deep eutectic solvent as a new electrochemical sensing platform / O. Hosu, M. M. Barsan, C. Cristea [et al.] // *Microchimica Acta*. – 2017. – V. 184. – № 10. – P. 3919-3927.
112. Da Silva, W. Biotoxic trace metal ion detection by enzymatic inhibition of a glucose biosensor based on a poly(brilliant green)–deep eutectic solvent/carbon nanotube modified electrode / W. Da Silva, M. E. Ghica, C. M. A. Brett // *Talanta*. – 2020. – V. 208. – P. 120427.
113. Aldana-González, J. On the electrochemical formation of nickel nanoparticles onto glassy carbon from a deep eutectic solvent / J. Aldana-González, M. Romero-Romo, J. Robles-Peralta [et al.] // *Electrochimica Acta*. – 2018. – V. 276. – P. 417-423.
114. Zhao, H. NiCo₂O₄ Nanorods Decorated MoS₂ Nanosheets Synthesized from Deep Eutectic Solvents and Their Application for Electrochemical Sensing of Glucose in Red Wine and Honey / H. Zhao, J. Xu, Q. Sheng [et al.] // *Journal of The Electrochemical Society*. – 2019. – V. 166. – № 10. – P. H404-H411.

115. Parsa, A. Electrodeposition of nickel wrinkled nanostructure from choline chloride deep eutectic solvent (reline) and application for electroanalysis of simvastatin / A. Parsa, H. Heli // *Microchemical Journal*. – 2020. – V. 152. – P. 104267.
116. Dehdari Vais, R. An anodized nanostructure of Ni/Cu alloy synthesized in ethaline for electrocatalytic oxidation and amperometric determination of l-carnitine / R. Dehdari Vais, H. Yadegari, N. Sattarahmady, H. Heli // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. – 2018. – V. 815. – P. 134-142.
117. Rong, K. Electrochemical fabrication of nanoporous gold electrodes in a deep eutectic solvent for electrochemical detections / K. Rong, L. Huang, H. Zhang [et al.] // *Chemical Communications*. – 2018. – V. 54. – № 64. – P. 8853-8856.
118. Sides, W. D. Electrodeposition of manganese thin films on a rotating disk electrode from choline chloride/urea based ionic liquids / W. D. Sides, Q. Huang // *Electrochimica Acta*. – 2018. – V. 266. – P. 185-192.
119. Abo-Hamad, A. Eutectic mixture-functionalized carbon nanomaterials for selective amperometric detection of nitrite using modified glassy carbon electrode / A. Abo-Hamad, M. A. AlSaadi, M. A. Hashim // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. – 2018. – V. 812. – P. 107-114.
120. Abbott, A. P. Paint casting: A facile method of studying mineral electrochemistry / A. P. Abbott, F. Bevan, M. Baeuerle [et al.] // *Electrochemistry Communications*. – 2017. – V. 76. – P. 20-23.
121. Zheng, Y. The Electrochemical Behavior and Determination of Quercetin in Choline Chloride/Urea Deep Eutectic Solvent Electrolyte Based on Abrasively Immobilized Multi-Wall Carbon Nanotubes Modified Electrode / Y. Zheng, L. Ye, L. Yan, Y. Gao // *International Journal of Electrochemical Science*. – 2014. – V. 9. – № 1. – P. 238-248.

122. Gomez, F. J. V. Enhanced electrochemical detection of quercetin by Natural Deep Eutectic Solvents / F. J. V. Gomez, M. Espino, M. De Los Angeles Fernandez [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2016. – V. 936. – P. 91-96.
123. Huang, Q. Electrochemical detection of SO₂ in a hydroxyl functionalized and eutectic-based ionic liquid / Q. Huang, Y. Hu, M. Zhang [et al.] // *Functional Materials Letters*. – 2019. – V. 12. – № 06. – P. 1950084.
124. Alizadeh, N. Hybrid Optoelectrochemical Sensor for Superselective Detection of 2,4,6-Trinitrotoluene Based on Electrochemical Reduced Meisenheimer Complex / N. Alizadeh, A. Ghoorchian // *Analytical Chemistry*. – 2018. – V. 90. – № 17. – P. 10360-10368.
125. Toniolo, R. A Deep Eutectic Solvent-based Amperometric Sensor for the Detection of Low Oxygen Contents in Gaseous Atmospheres / R. Toniolo, N. Dossi, R. Sveglij [et al.] // *Electroanalysis*. – 2016. – V. 28. – № 4. – P. 757-763.
126. Kroon, M. C. Deep Eutectic Solvents for Sustainable CO₂ Capture / M. C. Kroon, L. F. Zubeir // *Abu Dhabi International Petroleum Exhibition & Conference*. – Abu Dhabi, UAE : Society of Petroleum Engineers, 2016.
127. Liu, X. SO₂ absorption/desorption performance of renewable phenol-based deep eutectic solvents / X. Liu, B. Gao, D. Deng // *Separation Science and Technology*. – 2018. – V. 53. – № 14. – P. 2150-2158.
128. Akhmetshina, A. I. Evaluation of Methanesulfonate-Based Deep Eutectic Solvent for Ammonia Sorption / A. I. Akhmetshina, A. N. Petukhov, A. Mechergui [et al.] // *Journal of Chemical & Engineering Data*. – 2018. – V. 63. – № 6. – P. 1896-1904.

129. Moura, L. Deep eutectic solvents as green absorbents of volatile organic pollutants / L. Moura, T. Moufawad, M. Ferreira [et al.] // *Environmental Chemistry Letters*. – 2017. – V. 15. – № 4. – P. 747-753.
130. Mirza, N. R. Experiments and Thermodynamic Modeling of the Solubility of Carbon Dioxide in Three Different Deep Eutectic Solvents (DESs) / N. R. Mirza, N. J. Nicholas, Y. Wu [et al.] // *Journal of Chemical & Engineering Data*. – 2015. – V. 60. – № 11. – P. 3246-3252.
131. Leron, R. B. Carbon dioxide solubility in a deep eutectic solvent based on choline chloride and urea at T=303.15–343.15K and moderate pressures / R. B. Leron, A. Caparanga, M.-H. Li // *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. – 2013. – V. 44. – № 6. – P. 879-885.
132. Zulkurnai, N. Z. Carbon Dioxide (CO₂) Adsorption by Activated Carbon Functionalized with Deep Eutectic Solvent (DES) / N. Z. Zulkurnai, U. F. Md. Ali, N. Ibrahim, N. S. Abdul Manan // *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. – 2017. – T. 206. – C. 012001.
133. Sun, S. Efficient SO₂ Absorptions by Four Kinds of Deep Eutectic Solvents Based on Choline Chloride / S. Sun, Y. Niu, Q. Xu [et al.] // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. – 2015. – V. 54. – № 33. – P. 8019-8024.
134. Altamash, T. Insights into choline chloride–phenylacetic acid deep eutectic solvent for CO₂ absorption / T. Altamash, M. Atilhan, A. Aliyan [et al.] // *RSC Advances*. – 2016. – V. 6. – № 110. – P. 109201-109210.
135. Lu, M. Solubilities of carbon dioxide in the eutectic mixture of levulinic acid (or furfuryl alcohol) and choline chloride / M. Lu, G. Han, Y. Jiang [et al.] // *The Journal of Chemical Thermodynamics*. – 2015. – V. 88. – P. 72-77.
136. Wang, M. Natural deep eutectic solvents as eco-friendly and sustainable dilution medium for the determination of residual organic solvents in

- pharmaceuticals with static headspace-gas chromatography / M. Wang, S. Fang, X. Liang // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2018. – V. 158. – P. 262-268.
137. Zhang, W. Determination of Residual Solvents in Pharmaceuticals by Static Headspace Gas Chromatography Using Natural Deep Eutectic Solvents as Mediums: A Partition Coefficients Study / W. Zhang, S. Fang, X. Liang // *Chromatographia*. – 2019. – V. 82. – № 10. – P. 1523-1529.
138. Zhang, W. Headspace Gas Chromatography-Mass Spectrometry for Volatile Components Analysis in *Ipomoea Cairica* (L.) Sweet Leaves: Natural Deep Eutectic Solvents as Green Extraction and Dilution Matrix / W. Zhang, X. Liang // *Foods*. – 2019. – V. 8. – № 6. – P. 205.
139. Nie, J. Microwave-assisted deep eutectic solvent extraction coupled with headspace solid-phase microextraction followed by GC-MS for the analysis of volatile compounds from tobacco / J. Nie, G. Yu, Z. Song [et al.] // *Analytical Methods*. – 2017. – V. 9. – № 5. – P. 856-863.
140. Tang, B. Deep Eutectic Solvent-Based HS-SME Coupled with GC for the Analysis of Bioactive Terpenoids in *Chamaecyparis obtusa* Leaves / B. Tang, W. Bi, H. Zhang, K. H. Row // *Chromatographia*. – 2014. – V. 77. – № 3-4. – P. 373-377.
141. Yousefi, S. M. Enhanced headspace single drop microextraction method using deep eutectic solvent based magnetic bucky gels: Application to the determination of volatile aromatic hydrocarbons in water and urine samples / S. M. Yousefi, F. Shemirani, S. A. Ghorbanian // *Journal of Separation Science*. – 2018. – V. 41. – № 4. – P. 966-974.
142. Jouyban, A. Development of deep eutectic solvent based solidification of organic droplets-liquid phase microextraction; application to determination of some pesticides in farmers saliva and exhaled breath condensate samples / A.

- Jouyban, M. A. Farajzadeh, M. Khoubnasabjafari [et al.] // *Analytical Methods*. – 2019. – V. 11. – № 11. – P. 1530-1540.
143. Huang, Q. Electrochemical detection of SO₂ in a hydroxyl functionalized and eutectic-based ionic liquid / Q. Huang, Y. Hu, M. Zhang [et al.] // *Functional Materials Letters*. – 2019. – V. 12. – № 06. – P. 1950084.
144. Wu, X. Recent advances in green reagents for molecularly imprinted polymers / X. Wu, J. Du, M. Li [et al.] // *RSC Advances*. – 2018. – V. 8. – № 1. – P. 311-327.
145. Tang, W. Fabrication of Water-Compatible Molecularly Imprinted Resin in a Hydrophilic Deep Eutectic Solvent for the Determination and Purification of Quinolones in Wastewaters / W. Tang, K. H. Row // *Polymers*. – 2019. – V. 11. – № 5. – P. 871.
146. Li, G. Hybrid molecularly imprinted polymers modified by deep eutectic solvents and ionic liquids with three templates for the rapid simultaneous purification of rutin, scoparone, and quercetin from *Herba Artemisiae Scopariae* / G. Li, W. S. Ahn, K. H. Row // *Journal of Separation Science*. – 2016. – V. 39. – № 23. – P. 4465-4473.
147. Fu, N. Specific recognition of polyphenols by molecularly imprinted polymers based on a ternary deep eutectic solvent / N. Fu, L. Li, X. Liu [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2017. – V. 1530. – P. 23-34.
148. Ma, W. Preparation and evaluation of a green solvent-based molecularly imprinted monolithic column for the recognition of proteins by high-performance liquid chromatography / W. Ma, Y. An, K. H. Row // *The Analyst*. – 2019. – V. 144. – № 21. – P. 6327-6333.
149. Lamei, N. Dispersion of magnetic graphene oxide nanoparticles coated with a deep eutectic solvent using ultrasound assistance for preconcentration of

- methadone in biological and water samples followed by GC–FID and GC–MS / N. Lamei, M. Ezoddin, M. S. Ardestani, K. Abdi // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2017. – V. 409. – № 26. – P. 6113-6121.
150. Karimi, M. Deep eutectic solvent-mediated extraction for ligand-less preconcentration of lead and cadmium from environmental samples using magnetic nanoparticles / M. Karimi, A. M. H. Shabani, S. Dadfarnia // *Microchimica Acta*. – 2016. – V. 183. – № 2. – P. 563-571.
151. Tang, B. Preparation of chlorocholine chloride/urea deep eutectic solvent-modified silica and an examination of the ion exchange properties of modified silica as a Lewis adduct / B. Tang, H. E. Park, K. H. Row // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2014. – V. 406. – № 17. – P. 4309-4313.
152. Cai, T. Application of deep eutectic solvents in chromatography: A review / T. Cai, H. Qiu // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2019. – V. 120. – P. 115623.
153. Li, G. Isolation of Ferulic Acid from Wheat Bran with a Deep Eutectic Solvent and Modified Silica Gel / G. Li, T. Zhu, K. H. Row // *Analytical Letters*. – 2017. – V. 50. – № 12. – P. 1926-1938.
154. Tan, T. Deep eutectic solvent: a new kind of mobile phase modifier for hydrophilic interaction liquid chromatography / T. Tan, X. Qiao, Y. Wan, H. Qiu // *Chinese Journal of Chromatography*. – 2015. – V. 33. – № 9. – P. 934.
155. Hu, Y. Two copolymer-grafted silica stationary phases prepared by surface thiol-ene click reaction in deep eutectic solvents for hydrophilic interaction chromatography / Y. Hu, T. Cai, H. Zhang [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2020. – V. 1609. – P. 460446.

156. Gu, T. A novel green approach for the chemical modification of silica particles based on deep eutectic solvents / T. Gu, M. Zhang, J. Chen, H. Qiu // *Chemical Communications*. – 2015. – V. 51. – № 48. – P. 9825-9828.
157. Li, X. Synthesis of Mesoporous Siliceous Materials in Choline Chloride Deep Eutectic Solvents and the Application of These Materials to High-Performance Size Exclusion Chromatography / X. Li, Y. R. Lee, K. H. Row // *Chromatographia*. – 2016. – V. 79. – № 7-8. – P. 375-382.
158. Momotko, M. A natural deep eutectic solvent - protonated L-proline-xylitol - based stationary phase for gas chromatography / M. Momotko, J. Łuczak, A. Przyjazny, G. Boczkaj // *Journal of Chromatography A*. – 2022. – V. 1676. – P. 463238.
159. Momotko, M. First deep eutectic solvent-based (DES) stationary phase for gas chromatography and future perspectives for DES application in separation techniques / M. Momotko, J. Łuczak, A. Przyjazny, G. Boczkaj // *Journal of Chromatography A*. – 2021. – V. 1635. – P. 461701.
160. Habibi, E. A novel digestion method based on a choline chloride–oxalic acid deep eutectic solvent for determining Cu, Fe, and Zn in fish samples / E. Habibi, K. Ghanemi, M. Fallah-Mehrjardi, A. Dadolahi-Sohrab // *Analytica Chimica Acta*. – 2013. – V. 762. – P. 61-67.
161. Ghanemi, K. Ultra-fast microwave-assisted digestion in choline chloride–oxalic acid deep eutectic solvent for determining Cu, Fe, Ni and Zn in marine biological samples / K. Ghanemi, M.-A. Navidi, M. Fallah-Mehrjardi, A. Dadolahi-Sohrab // *Analytical Methods*. – 2014. – V. 6. – № 6. – P. 1774-1781.
162. Matong, J. M. Determination of As, Cr, Mo, Sb, Se and V in agricultural soil samples by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after simple and rapid solvent extraction using choline chloride-oxalic acid deep

- eutectic solvent / J. M. Matong, L. Nyaba, P. N. Nomngongo // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2017. – V. 135. – P. 152-157.
163. Santana, A. P. R. Natural deep eutectic solvents for sample preparation prior to elemental analysis by plasma-based techniques / A. P. R. Santana, D. F. Andrade, J. A. Mora-Vargas [et al.] // *Talanta*. – 2019. – V. 199. – P. 361-369.
164. Huang, Y. Green and efficient removal of cadmium from rice flour using natural deep eutectic solvents / Y. Huang, F. Feng, Z.-G. Chen [et al.] // *Food Chemistry*. – 2018. – V. 244. – P. 260-265.
165. Helalat-Nezhad, Z. Dissolution of biological samples in deep eutectic solvents: An approach for extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons followed by liquid chromatography-fluorescence detection / Z. Helalat-Nezhad, K. Ghanemi, M. Fallah-Mehrjardi // *Journal of Chromatography A*. – 2015. – V. 1394. – P. 46-53.
166. Torbati, M. Simultaneous derivatization and air-assisted liquid-liquid microextraction based on solidification of lighter than water deep eutectic solvent followed by gas chromatography-mass spectrometry: An efficient and rapid method for trace analysis of aromatic amines in aqueous samples / M. Torbati, A. Mohebbi, M. A. Farajzadeh, M. R. Afshar Mogaddam // *Analytica Chimica Acta*. – 2018. – V. 1032. – P. 48-55.
167. Jouyban, A. Derivatization and deep eutectic solvent-based air-assisted liquid-liquid microextraction of salbutamol in exhaled breath condensate samples followed by gas chromatography-mass spectrometry / A. Jouyban, M. A. Farajzadeh, M. Khoubnasabjafari [et al.] // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2020. – V. 191. – P. 113572.
168. Afshar Mogaddam, M. R. Hollow fiber-liquid phase microextraction method based on a new deep eutectic solvent for extraction and derivatization of some phenolic compounds in beverage samples packed in plastics / M. R. Afshar

- Mogaddam, M. A. Farajzadeh, A. Mohebbi, M. Nemati // *Talanta*. – 2020. – V. 216. – P. 120986.
169. Norouzi, F. Determination of morphine and oxymorphone in exhaled breath condensate samples: Application of microwave enhanced three-component deep eutectic solvent-based air-assisted liquid-liquid microextraction and derivatization prior to gas chromatography-mass spectrometry / F. Norouzi, M. Khoubnasabjafari, V. Jouyban-Gharamaleki [et al.] // *Journal of Chromatography B*. – 2020. – V. 1152. – P. 122256.
170. Afshar Mogaddam, M. R. Stir bar sorptive extraction combined with deep eutectic solvent-based dispersive liquid-liquid microextraction: application in simultaneous derivatisation and extraction of acidic pesticides / M. R. A. Mogaddam, M. A. Farajzadeh, A. Mohebbi, M. Nemati // *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. – 2022. – V. 102. – № 11. – P. 2673-2685.
171. Assadi, F. Development of a green in-situ derivatization and deep eutectic solvent-based dispersive liquid-liquid microextraction method for analysis of short-chain fatty acids in beverage samples optimized by response surface methodology / F. Assadi, M. R. Afshar Mogaddam, M. A. Farajzadeh [et al.] // *Microchemical Journal*. – 2021. – V. 166. – P. 106226.
172. Makoś, P. Sample preparation procedure using extraction and derivatization of carboxylic acids from aqueous samples by means of deep eutectic solvents for gas chromatographic-mass spectrometric analysis / P. Makoś, A. Fernandes, A. Przyjazny, G. Boczkaj // *Journal of Chromatography A*. – 2018. – V. 1555. – P. 10-19.
173. Zhang, K. One-step derivatization and temperature-controlled vortex-assisted liquid-liquid microextraction based on the solidification of floating deep eutectic solvents coupled to UV-Vis spectrophotometry for the rapid

- determination of total iron in water and food samples / K. Zhang, R. Guo, Y. Wang [et al.] // *Food Chemistry*. – 2022. – V. 384. – P. 132414.
174. Shishov, A. Deep eutectic solvents are not only effective extractants / A. Shishov, A. Pochivalov, L. Nugbienyo [et al.] // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2020. – V. 129. – P. 115956.
175. Sun, Y. High electrochemical activity of a Ti/SnO₂–Sb electrode electrodeposited using deep eutectic solvent / Y. Sun, S. Cheng, Z. Mao [et al.] // *Chemosphere*. – 2020. – V. 239. – P. 124715.
176. Dmitrienko, S. G. Recent advances in sample preparation techniques and methods of sulfonamides detection – A review / S. G. Dmitrienko, E. V. Kochuk, V. V. Apyari [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2014. – V. 850. – P. 6-25.
177. Katasonova, O. N. Extraction Methods for Removing Sulfur and Its Compounds from Crude Oil and Petroleum Products / O. N. Katasonova, E. Yu. Savonina, T. A. Maryutina // *Russian Journal of Applied Chemistry*. – 2021. – V. 94. – № 4. – P. 411-436.
178. Dmitrienko, S. G. Dispersive Liquid–Liquid Microextraction of Organic Compounds: An Overview of Reviews / S. G. Dmitrienko, V. V. Apyari, V. V. Tolmacheva, M. V. Gorbunova // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2020. – V. 75. – № 10. – P. 1237-1251.
179. Dmitrienko, S. G. Liquid–Liquid Extraction of Organic Compounds into a Single Drop of the Extractant: Overview of Reviews / S. G. Dmitrienko, V. V. Apyari, V. V. Tolmacheva, M. V. Gorbunova // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2021. – V. 76. – № 8. – P. 907-919.

180. Dmitrienko, S. G. Homogeneous Liquid–Liquid Microextraction of Organic Compounds / S. G. Dmitrienko, V. V. Apyari, M. V. Gorbunova [et al.] // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2020. – V. 75. – № 11. – P. 1371-1383.
181. Schüller, M. Membrane-based liquid-phase microextraction of basic pharmaceuticals – A study on the optimal extraction window / M. Schüller, K. T. T. Tran, E. L. Øiestad, S. Pedersen-Bjergaard // *Journal of Chromatography A*. – 2022. – V. 1664. – P. 462769.
182. Rezaee, M. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction / M. Rezaee, Y. Assadi, M.-R. Milani Hosseini [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2006. – V. 1116. – № 1-2. – P. 1-9.
183. Moret, S. Microwave-Based Technique for Fast and Reliable Extraction of Organic Contaminants from Food, with a Special Focus on Hydrocarbon Contaminants / S. Moret, C. Conchione, A. Srbinovska, P. Lucci // *Foods*. – 2019. – V. 8. – № 10. – P. 503.
184. Shamsipur, M. High performance liquid chromatographic determination of ultra traces of two tricyclic antidepressant drugs imipramine and trimipramine in urine samples after their dispersive liquid–liquid microextraction coupled with response surface optimization / M. Shamsipur, M. Mirmohammadi // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2014. – V. 100. – P. 271-278.
185. Torbati, M. Development of solidification of floating organic drops liquid–liquid microextraction in a newly designed extraction device / M. Torbati, M. A. Farajzadeh, M. Torbati, M. R. Afshar Mogaddam // *New Journal of Chemistry*. – 2017. – V. 41. – № 24. – P. 15384-15391.
186. Kozhevnikova, A. V. Complex extraction of rare earth elements from nitrate solutions with a tri-n-octylamine-octanoic acid bifunctional ionic liquid / A.

- V. Kozhevnikova, I. V. Zinov'eva, N. A. Milevskii [et al.] // *Journal of Molecular Liquids*. – 2023. – V. 390. – P. 123073.
187. Marcinkowska, R. Application of ionic liquids in microextraction techniques: Current trends and future perspectives / R. Marcinkowska, K. Konieczna, Ł. Marcinkowski [et al.] // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2019. – V. 119. – P. 115614.
188. Sokolova, T. A. Photometric Determination of Novocaine with Preconcentration in Surfactant Micelles / T. A. Sokolova, S. Yu. Doronin // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2022. – V. 77. – № 8. – P. 957-962.
189. Doronin, S. Yu. Ionic and micellar effects in supramolecular self-organizing surfactant media on an example of analytical systems amines-carbonyl compounds / S. Yu. Doronin, N. M. Zadymova, M. V. Poteshnova [et al.] // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2010. – V. 65. – № 1. – P. 48-55.
190. Antipin, I. S. Functional supramolecular systems: design and applications / I. S. Antipin, M. V. Alfimov, V. V. Arslanov [и др.] // *Russian Chemical Reviews*. – 2021. – T. 90. – № 8. – С. 895-1107.
191. Vidal, E. Reversed-phase dispersive liquid–liquid microextraction for elemental analysis of gasoline by inductively coupled plasma optical emission spectrometry / E. Vidal, A. S. Lorenzetti, M. B. Álvarez [et al.] // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. – 2021. – V. 36. – № 11. – P. 2338-2345.
192. Ghambari, H. Low-density solvent-based dispersive liquid–liquid microextraction followed by high performance liquid chromatography for determination of warfarin in human plasma / H. Ghambari, M. Hadjmohammadi // *Journal of Chromatography B*. – 2012. – V. 899. – P. 66-71.

193. Afzali, D. Displacement-dispersive liquid–liquid microextraction based on solidification floating organic drop trace amounts of lead in water sample prior to flame atomic absorption spectrometry determination / D. Afzali, M. Fayazi, A. Favi // *Journal of the Chilean Chemical Society*. – 2013. – V. 58. – № 1. – P. 1593-1596.
194. Kocot, K. Dispersive liquid–liquid microextraction using diethyldithiocarbamate as a chelating agent and the dried-spot technique for the determination of Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Se and Pb by energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry / K. Kocot, B. Zawisza, R. Sitko // *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*. – 2012. – V. 73. – P. 79-83.
195. Daneshvand, B. Supercritical fluid extraction combined with ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction for analyzing alkylphenols in soil samples / B. Daneshvand, F. Raofie // *Journal of the Iranian Chemical Society*. – 2015. – V. 12. – № 7. – P. 1287-1292.
196. Peng, B. Use of ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction and high-performance liquid chromatography to detect formaldehyde in air, water, and soil samples / B. Peng, J. Zhang, C. Wu [et al.] // *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. – 2014. – V. 37. – № 6. – P. 815-828.
197. Ebrahimi, A. Negative corona discharge-ion mobility spectrometry as a detection system for low density extraction solvent-based dispersive liquid–liquid microextraction / A. Ebrahimi, M. T. Jafari // *Talanta*. – 2015. – V. 134. – P. 724-731.

198. Gardner, M. A. Analysis of Fentanyl in Urine by DLLME–GC-MS / M. A. Gardner, S. Sampsel, W. W. Jenkins, J. E. Owens // *Journal of Analytical Toxicology*. – 2015. – V. 39. – № 2. – P. 118-125.
199. Monzón, C. M. Chemometric optimization and validation of a novel dispersive liquid–liquid microextraction–HPLC method for gliclazide, glibenclamide and glimepiride quantitation in serum samples / C. M. Monzón, C. M. Teglia, M. R. Delfino, H. C. Goicoechea // *Microchemical Journal*. – 2016. – V. 127. – P. 113-119.
200. Pham, T. T. T. Determination of free and total valproic acid in human plasma by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection / T. T. T. Pham, H. H. See, R. Morand [et al.] // *Journal of Chromatography B*. – 2012. – V. 907. – P. 74-78.
201. Lasarte-Aragonés, G. Effervescence assisted dispersive liquid–liquid microextraction with extractant removal by magnetic nanoparticles / G. Lasarte-Aragonés, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel // *Analytica Chimica Acta*. – 2014. – V. 807. – P. 61-66.
202. Elik, A. An air-assisted dispersive liquid phase microextraction method based on a hydrophobic magnetic deep eutectic solvent for the extraction and preconcentration of melamine from milk and milk-based products / A. Elik, S. Fesliyan, N. Gürsoy [et al.] // *Food Chemistry*. – 2023. – V. 426. – P. 136573.
203. Elik, A. Ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop for analysis of propineb in water and food samples: Experimental modeling / A. Elik, N. Altunay // *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. – 2023. – V. 35. – P. 101215.
204. Mat Hussin, S. A. Vortex assisted dispersive liquid–liquid microextraction based on low transition temperature mixture solvent for the HPLC

- determination of pyrethroids in water samples: Experimental study and COSMO-RS / S. A. Mat Hussin, P. Varanusupakul, M. A. Kassim [et al.] // *Microchemical Journal*. – 2021. – V. 171. – P. 106780.
205. Goryacheva, I. Yu. Preconcentration and fluorimetric determination of polycyclic aromatic hydrocarbons based on the acid-induced cloud-point extraction with sodium dodecylsulfate / I. Yu. Goryacheva, S. N. Shtykov, A. S. Loginov, I. V. Panteleeva // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2005. – V. 382. – № 6. – P. 1413-1418.
206. Smirnova, T. D. Determination of flunixin by sensitized terbium fluorescence in the presence of surfactant micelles / T. D. Smirnova, S. N. Shtykov, E. A. Zhelobitskaya, M. I. Safarova // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2017. – V. 72. – № 5. – P. 562-566.
207. Doronin, S. Yu. Effect of the micellar surfactant nanoreactors on the reactions of 2,4-dinitrophenylhydrazine with some aldehydes / S. Yu. Doronin, R. K. Chernova, A. A. Burmistrova // *Russian Journal of General Chemistry*. – 2008. – V. 78. – № 5. – P. 903-907.
208. Doronin, S. Yu. Analytical Aspects of Reactions of Primary Aromatic Amines with p-Dimethylaminocinnamic Aldehyde in the Presence of Surfactant Ions and Micelles / S. Yu. Doronin, R. K. Chernova, N. N. Gusakova // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2005. – V. 60. – № 5. – P. 412-419.
209. Campillo, N. Ten years of dispersive liquid–liquid microextraction and derived techniques / N. Campillo, P. Viñas, J. Šandrejová, V. Andrich // *Applied Spectroscopy Reviews*. – 2017. – V. 52. – № 4. – P. 267-415.
210. Kou, D. Supported liquid membrane microextraction with high-performance liquid chromatography–UV detection for monitoring trace haloacetic acids in water / D. Kou, X. Wang, S. Mitra // *Journal of Chromatography A*. – 2004. – V. 1055. – № 1-2. – P. 63-69.

211. Pochivalov, A. Switchable hydrophilicity solvent membrane-based microextraction: HPLC-FLD determination of fluoroquinolones in shrimps / A. Pochivalov, I. Timofeeva, C. Vakh, A. Bulatov // *Analytica Chimica Acta*. – 2017. – V. 976. – P. 35-44.
212. Honda, L. Integration of rotating disk sorptive extraction and dispersive-solid phase extraction for the determination of estrogens and their metabolites in urine by liquid chromatography/mass spectrometry / L. Honda, D. Arismendi, P. Richter // *Microchemical Journal*. – 2023. – V. 185. – P. 108273.
213. Sarafraz-Yazdi, A. Liquid-phase microextraction / A. Sarafraz-Yazdi, A. Amiri // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2010. – V. 29. – № 1. – P. 1-14.
214. Cunha, R. L. Determination of free (unconjugated) amphetamine-type stimulants in urine samples by dispersive liquid–liquid microextraction and gas chromatography coupled to mass spectrometry (DLLME-GC-MS) / R. L. Cunha, W. A. Lopes, P. A. P. Pereira // *Microchemical Journal*. – 2016. – V. 125. – P. 230-235.
215. Ding, M. Simultaneous determination of seven preservatives in food by dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry / M. Ding, W. Liu, J. Peng [et al.] // *Food Chemistry*. – 2018. – V. 269. – P. 187-192.
216. Bravo, M. A. Determination of organotin compounds in sediment samples by dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography – Pulsed flame photometric detection (DLLME-GC-PFPD) / M. A. Bravo, S. Parra, C. Vargas, W. Quiroz // *Microchemical Journal*. – 2017. – V. 134. – P. 49-53.

217. Çetin, E. DLLME-spectrophotometric determination of glyphosate residue in legumes / E. Çetin, S. Şahan, A. Ülgen, U. Şahin // *Food Chemistry*. – 2017. – V. 230. – P. 567-571.
218. Asadollahi, T. Separation/preconcentration and determination of vanadium with dispersive liquid–liquid microextraction based on solidification of floating organic drop (DLLME-SFO) and electrothermal atomic absorption spectrometry / T. Asadollahi, S. Dadfarnia, A. M. H. Shabani // *Talanta*. – 2010. – V. 82. – № 1. – P. 208-212.
219. Rocha, B. A. A fast method for bisphenol A and six analogues (S, F, Z, P, AF, AP) determination in urine samples based on dispersive liquid-liquid microextraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry / B. A. Rocha, B. R. B. Da Costa, N. C. P. De Albuquerque [et al.] // *Talanta*. – 2016. – V. 154. – P. 511-519.
220. Karadaş, C. Dispersive liquid–liquid microextraction based on solidification of floating organic drop for preconcentration and determination of trace amounts of copper by flame atomic absorption spectrometry / C. Karadaş, D. Kara // *Food Chemistry*. – 2017. – V. 220. – P. 242-248.
221. Galuch, M. B. Determination of acrylamide in brewed coffee by dispersive liquid–liquid microextraction (DLLME) and ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) / M. B. Galuch, T. F. S. Magon, R. Silveira [et al.] // *Food Chemistry*. – 2019. – V. 282. – P. 120-126.
222. Kalschne, D. L. A new and feasible analytical method using reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction (RP-DLLME) for further determination of Nickel in hydrogenated vegetable fat / D. L. Kalschne, C. Canan, M. O. Beato [et al.] // *Talanta*. – 2020. – V. 208. – P. 120409.

223. Alcantara, G. K. S. A fast DLLME-LC-MS/MS method for risperidone and its metabolite 9-hydroxyrisperidone determination in plasma samples for therapeutic drug monitoring of patients / G. K. S. Alcantara, L. A. Calixto, B. A. Rocha [et al.] // *Microchemical Journal*. – 2020. – V. 156. – P. 104894.
224. Ye, X. Trace enantioselective determination of triazole fungicides in honey by a sensitive and efficient method / X. Ye, S. Ma, L. Zhang [et al.] // *Journal of Food Composition and Analysis*. – 2018. – V. 74. – P. 62-70.
225. Cunha, S. C. Quantification of free and total bisphenol A and bisphenol B in human urine by dispersive liquid–liquid microextraction (DLLME) and heart-cutting multidimensional gas chromatography–mass spectrometry (MD–GC/MS) / S. C. Cunha, J. O. Fernandes // *Talanta*. – 2010. – V. 83. – № 1. – P. 117-125.
226. Spivakov, B. Ya. Determination of ortho- and pyrophosphates in waters by extraction chromatography and flow-injection analysis / B. Ya. Spivakov, T. A. Maryutina, L. K. Shpigun [et al.] // *Talanta*. – 1990. – V. 37. – № 9. – P. 889-894.
227. Tsizin, G. I. Preconcentration of Organic Substances on Low-Polar Adsorbents in the Flow Systems of Analysis / G. I. Tsizin, M. A. Statkus, Yu. A. Zolotov // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2018. – V. 73. – № 11. – P. 1030-1042.
228. Tsizin, G. I. Adsorption and extraction preconcentration of trace components in flow analytical systems / G. I. Tsizin, M. A. Statkus, Yu. A. Zolotov // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2015. – V. 70. – № 11. – P. 1289-1306.
229. Anthemidis, A. N. Determination of chromium(VI) and lead in water samples by on-line sorption preconcentration coupled with flame atomic absorption spectrometry using a PCTFE-beads packed column / A. N. Anthemidis, S.-J. V. Koussoroplis // *Talanta*. – 2007. – V. 71. – № 4. – P. 1728-1733.

230. Medina, D. A. V. Automated dispersive liquid-liquid microextraction based on the solidification of the organic phase / D. A. V. Medina, Á. J. Santos-Neto, V. Cerdà, F. Maya // *Talanta*. – 2018. – V. 189. – P. 241-248.
231. Medinskaia, K. A fully automated effervescence assisted dispersive liquid-liquid microextraction based on a stepwise injection system. Determination of antipyrine in saliva samples / K. Medinskaia, C. Vakh, D. Aseeva [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2016. – V. 902. – P. 129-134.
232. Maya, F. Completely automated in-syringe dispersive liquid-liquid microextraction using solvents lighter than water / F. Maya, J. M. Estela, V. Cerdà // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2012. – V. 402. – № 3. – P. 1383-1388.
233. Horstkotte, B. The Automation Technique Lab-In-Syringe: A Practical Guide / B. Horstkotte, P. Solich // *Molecules*. – 2020. – V. 25. – № 7. – P. 1612.
234. Maya, F. Automated in-syringe dispersive liquid-liquid microextraction / F. Maya, B. Horstkotte, J. M. Estela, V. Cerdà // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2014. – V. 59. – P. 1-8.
235. Cerdà, V. Lab-in-Syringe, a Useful Technique for the Analysis and Detection of Pollutants of Emerging Concern in Environmental and Food Samples / V. Cerdà, S. L. C. Ferreira, P. Phansi // *Molecules*. – 2022. – V. 27. – № 21. – P. 7279.
236. Clavijo, S. In-syringe-assisted dispersive liquid-liquid microextraction coupled to gas chromatography with mass spectrometry for the determination of six phthalates in water samples / S. Clavijo, M. Del Rosario Brunetto, V. Cerdà // *Journal of Separation Science*. – 2014. – V. 37. – № 8. – P. 974-981.
237. Villar, M. Automatic in-syringe dispersive liquid-liquid microextraction of ^{99}Tc from biological samples and hospital residues prior to liquid scintillation

- counting / M. Villar, J. Avivar, L. Ferrer [et al.] // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2015. – V. 407. – № 19. – P. 5571-5578.
238. Zhu, X. Automated syringe-pump-based flow-batch analysis for spectrophotometric determination of trace hexavalent chromium in water samples / X. Zhu, Y. Deng, P. Li [et al.] // *Microchemical Journal*. – 2019. – V. 145. – P. 1135-1142.
239. Gemuh, C. V. Renewable sorbent dispersive solid phase extraction automated by Lab-In-Syringe using magnetite-functionalized hydrophilic-lipophilic balanced sorbent coupled online to HPLC for determination of surface water contaminants / C. V. Gemuh, M. Macháček, P. Solich, B. Horstkotte // *Analytica Chimica Acta*. – 2022. – V. 1210. – P. 339874.
240. Fikarová, K. Automated centrifugation-less milk deproteinization and homogenous liquid-liquid extraction of sulfonamides for online liquid chromatography / K. Fikarová, D. Machián, S. Yıldırım [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2022. – V. 1233. – P. 340507.
241. Yıldırım, S. Lab-in-syringe automated protein precipitation and salting-out homogenous liquid-liquid extraction coupled online to UHPLC-MS/MS for the determination of beta-blockers in serum / S. Yıldırım, K. Fikarová, V. Pilařová [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2023. – V. 1251. – P. 340966.
242. Manousi, N. An integrated automatic lab-in-syringe sol-gel coated foam microextraction platform as a front-end to high performance liquid chromatography for the migration studies of bisphenol A / N. Manousi, I. Priovolos, A. Kabir [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2023. – V. 1268. – P. 341400.
243. Manousi, N. A flow-batch lab-in-syringe foam microextraction platform for the simultaneous preconcentration and in situ membraneless gas-liquid separation of mercury prior to cold vapor atomic absorption spectrometry / N.

- Manousi, A. N. Anthemidis // *Analytica Chimica Acta*. – 2024. – V. 1290. – P. 342208.
244. Fikarová, K. Automated continuous-flow in-syringe dispersive liquid-liquid microextraction of mono-nitrophenols from large sample volumes using a novel approach to multivariate spectral analysis / K. Fikarová, B. Horstkotte, H. Sklenářová [et al.] // *Talanta*. – 2019. – V. 202. – P. 11-20.
245. Fikarová, K. Lab-In-Syringe for automated double-stage sample preparation by coupling salting out liquid-liquid extraction with online solid-phase extraction and liquid chromatographic separation for sulfonamide antibiotics from urine / K. Fikarová, B. Horstkotte, D. Machián [et al.] // *Talanta*. – 2021. – V. 221. – P. 121427.
246. Santos, F. G. Flow-based determination of lead exploiting in-syringe dispersive liquid-liquid micro-extraction in xylene and integrated spectrophotometric detection / F. G. Santos, F. Maya, B. F. D. Reis [et al.] // *Talanta*. – 2022. – V. 247. – P. 123528.
247. Manousi, N. A continuous flow polyurethane foam solid phase microextraction lab-in-syringe platform for the automatic determination of toxic metals / N. Manousi, A. Anthemidis // *Talanta*. – 2024. – V. 269. – P. 125492.
248. Gemuh, C. V. Lab-In-Syringe with Bead Injection Coupled Online to High-Performance Liquid Chromatography as Versatile Tool for Determination of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs in Surface Waters / C. V. Gemuh, B. Horstkotte, P. Solich // *Molecules*. – 2021. – V. 26. – № 17. – P. 5358.
249. Rodriguez, N. Degradation of Deep-Eutectic Solvents Based on Choline Chloride and Carboxylic Acids / N. Rodriguez, A. Van Den Bruinhorst, L. J. B. M. Kollau [et al.] // *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. – 2019. – V. 7. – № 13. – P. 11521-11528.

250. Ninayan, R. Water-induced changes in choline chloride-carboxylic acid deep eutectic solvents properties / R. Ninayan, A. S. Levshakova, E. M. Khairullina [et al.] // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2023. – V. 679. – P. 132543.
251. Aydin, F. A simple and novel deep eutectic solvent based ultrasound-assisted emulsification liquid phase microextraction method for malachite green in farmed and ornamental aquarium fish water samples / F. Aydin, E. Yilmaz, M. Soylak // *Microchemical Journal*. – 2017. – V. 132. – P. 280-285.
252. Panhwar, A. H. Ultrasonic assisted dispersive liquid-liquid microextraction method based on deep eutectic solvent for speciation, preconcentration and determination of selenium species (IV) and (VI) in water and food samples / A. H. Panhwar, M. Tuzen, T. G. Kazi // *Talanta*. – 2017. – V. 175. – P. 352-358.
253. Zounr, R. A. Ultrasound assisted deep eutectic solvent based on dispersive liquid liquid microextraction of arsenic speciation in water and environmental samples by electrothermal atomic absorption spectrometry / R. A. Zounr, M. Tuzen, M. Y. Khuhawar // *Journal of Molecular Liquids*. – 2017. – V. 242. – P. 441-446.
254. Aydin, F. Vortex assisted deep eutectic solvent (DES)-emulsification liquid-liquid microextraction of trace curcumin in food and herbal tea samples / F. Aydin, E. Yilmaz, M. Soylak // *Food Chemistry*. – 2018. – V. 243. – P. 442-447.
255. Lamei, N. Dispersion of magnetic graphene oxide nanoparticles coated with a deep eutectic solvent using ultrasound assistance for preconcentration of methadone in biological and water samples followed by GC-FID and GC-MS / N. Lamei, M. Ezoddin, M. S. Ardestani, K. Abdi // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2017. – V. 409. – № 26. – P. 6113-6121.

256. Zounr, R. A. Novel ultrasonic-assisted deep eutectic solvent-based dispersive liquid–liquid microextraction for determination of vanadium in food samples by electrothermal atomic absorption spectrometry: A multivariate study / R. A. Zounr, M. Tuzen, M. Y. Khuhawar // *Applied Organometallic Chemistry*. – 2018. – V. 32. – № 3. – P. e4144.
257. Khezeli, T. Emulsification liquid–liquid microextraction based on deep eutectic solvent: An extraction method for the determination of benzene, toluene, ethylbenzene and seven polycyclic aromatic hydrocarbons from water samples / T. Khezeli, A. Daneshfar, R. Sahraei // *Journal of Chromatography A*. – 2015. – V. 1425. – P. 25-33.
258. Liu, L. Emulsification liquid–liquid microextraction based on deep eutectic solvents: an extraction method for the determination of sulfonamides in water samples / L. Liu, T. Zhu // *Analytical Methods*. – 2017. – V. 9. – № 32. – P. 4747-4753.
259. Arain, M. B. Deep eutectic solvent based ultrasonic assisted liquid phase microextraction for the FAAS determination of cobalt / M. B. Arain, E. Yilmaz, M. Soylak // *Journal of Molecular Liquids*. – 2016. – V. 224. – P. 538-543.
260. Panhwar, A. H. Deep eutectic solvent based advance microextraction method for determination of aluminum in water and food samples: Multivariate study / A. H. Panhwar, M. Tuzen, T. G. Kazi // *Talanta*. – 2018. – V. 178. – P. 588-593.
261. Zounr, R. A. A simple and green deep eutectic solvent based air assisted liquid phase microextraction for separation, preconcentration and determination of lead in water and food samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry / R. A. Zounr, M. Tuzen, M. Y. Khuhawar // *Journal of Molecular Liquids*. – 2018. – V. 259. – P. 220-226.

262. Zounr, R. A. A highly selective and sensitive ultrasonic assisted dispersive liquid phase microextraction based on deep eutectic solvent for determination of cadmium in food and water samples prior to electrothermal atomic absorption spectrometry / R. A. Zounr, M. Tuzen, N. Deligonul, M. Y. Khuhawar // *Food Chemistry*. – 2018. – V. 253. – P. 277-283.
263. Shishov, A. An automated homogeneous liquid-liquid microextraction based on deep eutectic solvent for the HPLC-UV determination of caffeine in beverages / A. Shishov, N. Volodina, D. Nechaeva [et al.] // *Microchemical Journal*. – 2019. – V. 144. – P. 469-473.
264. Shishov, A. Decomposition of deep eutectic solvents based on choline chloride and phenol in aqueous phase / A. Shishov, A. Gorbunov, L. Moskvina, A. Bulatov // *Journal of Molecular Liquids*. – 2020. – V. 301. – P. 112380.
265. Shishov, A. Behavior of quaternary ammonium salts and terpenoids-based deep eutectic solvents in aqueous phase / A. Shishov, I. Dubrovsky, S. Kirichenko, A. Bulatov // *Journal of Molecular Liquids*. – 2022. – V. 347. – P. 117987.
266. Shishov, A. Deep eutectic solvents are not only effective extractants / A. Shishov, A. Pochivalov, L. Nugbienyo [et al.] // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2020. – V. 129. – P. 115956.
267. Shishov, A. Deep eutectic solvents as a new kind of dispersive solvent for dispersive liquid-liquid microextraction / A. Shishov, N. Volodina, D. Nechaeva [et al.] // *RSC Advances*. – 2018. – V. 8. – № 67. – P. 38146-38149.
268. Du, X. Determination of Estrone and 17 β -Estradiol in Water Samples Using Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Followed by LC / X. Du, X. Wang, Y. Li [et al.] // *Chromatographia*. – 2010. – V. 71. – № 5-6. – P. 405-410.

269. Havlíková, L. Determination of estradiol and its degradation products by liquid chromatography / L. Havlíková, L. Nováková, L. Matysová [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2006. – V. 1119. – № 1-2. – P. 216-223.
270. Yilmaz, B. Determination of 17 β -estradiol in pharmaceutical preparation by UV spectrophotometry and high performance liquid chromatography methods / B. Yilmaz, Y. Kadioglu // *Arabian Journal of Chemistry*. – 2017. – V. 10. – P. S1422-S1428.
271. Salcı, B. Voltammetric investigation of β -estradiol / B. Salcı, I. Biryol // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2002. – V. 28. – № 3-4. – P. 753-759.
272. Shishov, A. In situ decomposition of deep eutectic solvent as a novel approach in liquid-liquid microextraction / A. Shishov, R. Chromá, C. Vakh [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2019. – V. 1065. – P. 49-55.
273. Shishov, A. Reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction based on decomposition of deep eutectic solvent for the determination of lead and cadmium in vegetable oil / A. Shishov, N. Volodina, E. Semenova [et al.] // *Food Chemistry*. – 2022. – V. 373. – P. 131456.
274. Pochivalov, A. An automated in-syringe switchable hydrophilicity solvent-based microextraction / A. Pochivalov, C. Vakh, S. Garmonov [et al.] // *Talanta*. – 2020. – V. 209. – P. 120587.
275. Kharaka, Y. K. Thermal decarboxylation of acetic acid: Implications for origin of natural gas / Y. K. Kharaka, W. W. Carothers, R. J. Rosenbauer // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 1983. – V. 47. – № 3. – P. 397-402.
276. Shishov, A. Microextraction of sulfonamides from chicken meat samples in three-component deep eutectic solvent / A. Shishov, A. Gorbunov, E.

- Baranovskii, A. Bulatov // *Microchemical Journal*. – 2020. – V. 158. – P. 105274.
277. Abdelquader, M. M. Therapeutic deep eutectic solvents: A comprehensive review of their thermodynamics, microstructure and drug delivery applications / M. M. Abdelquader, S. Li, G. P. Andrews, D. S. Jones // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2023. – V. 186. – P. 85-104.
278. Shishov, A. Y. A new approach for microextraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs from human urine samples based on in-situ deep eutectic mixture formation / A. Y. Shishov, M. V. Chislov, D. V. Nechaeva [et al.] // *Journal of Molecular Liquids*. – 2018. – V. 272. – P. 738-745.
279. Martinez-Sena, T. Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in water and urine using selective molecular imprinted polymer extraction and liquid chromatography / T. Martinez-Sena, S. Armenta, M. D. L. Guardia, F. A. Esteve-Turrillas // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2016. – V. 131. – P. 48-53.
280. Sarafraz-Yazdi, A. Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in urine by hollow-fiber liquid membrane-protected solid-phase microextraction based on sol–gel fiber coating / A. Sarafraz-Yazdi, A. Amiri, G. Rounaghi, H. Eshtiagh-Hosseini // *Journal of Chromatography B*. – 2012. – V. 908. – P. 67-75.
281. Shukri, D. S. M. Liquid Chromatographic Determination of NSAIDs in Urine After Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Based on Solidification of Floating Organic Droplets / D. S. M. Shukri, M. M. Sanagi, W. A. W. Ibrahim // *Chromatographia*. – 2015. – V. 78. – № 15-16. – P. 987-994.
282. Sun, Y. Simultaneous determination of arylpropionic acidic non-steroidal anti-inflammatory drugs in pharmaceutical formulations and human plasma

- by HPLC with UV detection / Y. Sun, K. Takaba, H. Kido [et al.] // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2003. – V. 30. – № 5. – P. 1611-1619.
283. Wang, R. Solid phase microextraction with poly(deep eutectic solvent) monolithic column online coupled to HPLC for determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs / R. Wang, W. Li, Z. Chen // *Analytica Chimica Acta*. – 2018. – V. 1018. – P. 111-118.
284. Magiera, S. Ultrasound-assisted emulsification microextraction combined with ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of ibuprofen and its metabolites in human urine / S. Magiera, Ş. Gülmez // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2014. – V. 92. – P. 193-202.
285. Martín, M. Simultaneous determination of caffeine and non-steroidal anti-inflammatory drugs in pharmaceutical formulations and blood plasma by reversed-phase HPLC from linear gradient elution / M. Martín // *Talanta*. – 1999. – V. 49. – № 2. – P. 453-459.
286. Štěpánková, M. Voltammetric determination of mesalazine in pharmaceutical preparations and biological samples using boron-doped diamond electrode / M. Štěpánková, R. Šelešovská, L. Janíková, J. Chýlková // *Chemical Papers*. – 2017. – V. 71. – № 8. – P. 1419-1427.
287. Ramos-Payan, M. An effective microfluidic based liquid-phase microextraction device (μ LPME) for extraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs from biological and environmental samples / M. Ramos-Payan, S. MasPOCH, A. Llobera // *Analytica Chimica Acta*. – 2016. – V. 946. – P. 56-63.
288. Shishov, A. An effervescence-assisted dispersive liquid–liquid microextraction based on deep eutectic solvent decomposition: Determination

- of ketoprofen and diclofenac in liver / A. Shishov, A. Gerasimov, D. Nechaeva [et al.] // *Microchemical Journal*. – 2020. – V. 156. – P. 104837.
289. Igualada, C. Rapid method for the determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in animal tissue by liquid chromatography–mass spectrometry with ion-trap detector / C. Igualada, F. Moragues, J. Pitarch // *Analytica Chimica Acta*. – 2007. – V. 586. – № 1-2. – P. 432-439.
290. Shishov, A. Deep eutectic mixture membrane-based microextraction: HPLC-FLD determination of phenols in smoked food samples / A. Shishov, S. Gagarionova, A. Bulatov // *Food Chemistry*. – 2020. – V. 314. – P. 126097.
291. Shishov, A. A rotating disk sorptive extraction based on hydrophilic deep eutectic solvent formation / A. Shishov, N. Volodina, S. Gagarionova [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2021. – V. 1141. – P. 163-172.
292. Sun, Y. Determination of bisphenol A in human breast milk by HPLC with column-switching and fluorescence detection / Y. Sun, M. Irie, N. Kishikawa [et al.] // *Biomedical Chromatography*. – 2004. – V. 18. – № 8. – P. 501-507.
293. Shishov, A. Stir membrane liquid-phase microextraction based on milk fats hydrolysis and deep eutectic solvent formation: Determination of bisphenols / A. Shishov, P. Terno, M. Besedovsky, A. Bulatov // *Food Chemistry*. – 2023. – V. 403. – P. 134408.
294. Maragou, N. C. Determination of bisphenol A in milk by solid phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry / N. C. Maragou, E. N. Lampi, N. S. Thomaidis, M. A. Koupparis // *Journal of Chromatography A*. – 2006. – V. 1129. – № 2. – P. 165-173.
295. Xiong, L. A rapid and simple HPLC–FLD screening method with QuEChERS as the sample treatment for the simultaneous monitoring of nine bisphenols in

- milk / L. Xiong, P. Yan, M. Chu [et al.] // Food Chemistry. – 2018. – V. 244. – P. 371-377.
296. Ye, X. Automated on-line column-switching HPLC-MS/MS method with peak focusing for measuring parabens, triclosan, and other environmental phenols in human milk / X. Ye, A. M. Bishop, L. L. Needham, A. M. Calafat // Analytica Chimica Acta. – 2008. – V. 622. – № 1-2. – P. 150-156.
297. Shishov, A. Deep eutectic solvent-based extraction of metals from oil samples for elemental analysis by ICP-OES / A. Shishov, S. Savinov, N. Volodina [et al.] // Microchemical Journal. – 2022. – V. 179. – P. 107456.
298. Ninayan, R. Deep eutectic solvents vs. Aqueous acids in metal extraction from animal tissues / R. Ninayan, U. Markova, E. Nizov [et al.] // Microchemical Journal. – 2024. – V. 200. – P. 110252.
299. Shishov, A. Deep eutectic solvents based on carboxylic acids for metals separation from plant samples: Elemental analysis by ICP-OES / A. Shishov, A. Gerasimov, A. Bulatov // Food Chemistry. – 2022. – V. 366. – P. 130634.
300. Shishov, A. A hydrophobic deep eutectic solvent-based microextraction for the determination of ultra-trace arsenic in foods by an electrothermal atomization atomic absorption spectrometry / A. Shishov, I. Timofeeva, A. Gerasimov [et al.] // Talanta. – 2024. – V. 266. – P. 125078.
301. Altunay, N. Assessment of arsenic in water, rice and honey samples using new and green vortex-assisted liquid phase microextraction procedure based on deep eutectic solvent: Multivariate study / N. Altunay, A. Elik, M. Farooque Lanjwani, M. Tuzen // Microchemical Journal. – 2022. – V. 179. – P. 107541.
302. Zounr, R. A. Ultrasound assisted deep eutectic solvent based on dispersive liquid liquid microextraction of arsenic speciation in water and environmental samples by electrothermal atomic absorption spectrometry / R. A. Zounr, M.

- Tuzen, M. Y. Khuhawar // *Journal of Molecular Liquids*. – 2017. – V. 242. – P. 441-446.
303. Ji, Y. Hydrophobic deep eutectic solvent-based ultrasonic-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for preconcentration and determination of trace cadmium and arsenic in wine samples / Y. Ji, M. Zhao, A. Li, L. Zhao // *Microchemical Journal*. – 2021. – V. 164. – P. 105974.
304. Shishov, A. Yu. Automated Microextraction Separation of Lead from Vegetable Oils for Determination by Atomic Absorption Spectrometry / A. Yu. Shishov, A. V. Bulatov // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2024. – V. 79. – № 1. – P. 35-41.
305. Shishov, A. Automated reversed-phase liquid-liquid microextraction based on deep eutectic solvent for the determination of copper as vegetable oil oxidation catalyst / A. Shishov, I. Gurev, A. Bulatov // *Journal of Food Composition and Analysis*. – 2023. – V. 119. – P. 105247.
306. Shishov, A. In-syringe dispersive liquid-liquid microextraction using deep eutectic solvent as disperser: Determination of chromium (VI) in beverages / A. Shishov, P. Terno, L. Moskvina, A. Bulatov // *Talanta*. – 2020. – V. 206. – P. 120209.

Приложения

Приложение 1
Акты внедрения**ПЕТРОАНАЛИТИКА**

190020, Санкт-Петербург, ул. Бумажная, д. 17, оф. 472
тел. (812) 447-95-10; тел./факс (812) 445-27-70
e-mail: info@petroanalytica.ru, www: petroanalytica.ru

В Диссертационный совет Д 24.2.392.03

410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83

Исх. № 188 от «__» _____ 2024 г.

**АКТ о практическом применении результатов диссертационного исследования
Шишова Андрея Юрьевича на тему: «Эвтектические растворители в методах
жидкостной микроэкстракции»**

Настоящим удостоверяется практическое применение результатов диссертационного исследования Шишова А.Ю. на тему: «Эвтектические растворители в методах жидкостной микроэкстракции для анализа объектов со сложной матрицей» в производственной деятельности ООО «Петроаналитика». Результаты исследования были использованы при разработке, химическом анализе и аттестации метрологических характеристик стандартных образцов СМОЛ-ПАУ-ПА: СО массовой доли полициклических ароматических углеводородов в сухом и восстановленном молоке, СМОЛ-АБ-ПА: СО массовой доли антибиотиков в сухом и восстановленном молоке и СМОЛ-ПЕСТ-ПА: СО массовой доли пестицидов в сухом и восстановленном молоке.

Генеральный директор

Д.А. Вирки



МИНИСТЕРСТВО ОБОРОНЫ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(МИНОБОРОНЫ РОССИИ)

ВОЕННО-МЕДИЦИНСКАЯ
АКАДЕМИЯ

г. Санкт-Петербург,
ул. Академика Лебедева, 6, 194044

«04» 10 2024 г. № 4/ 316

На № _____

Экз. - № 1

В Диссертационный совет Д 24.2.392.03

ул. Астраханская, д. 83
г. Саратов, 410012

АКТ

использования результатов диссертационного исследования
Шишова Андрея Юрьевича на тему:
**«Эвтектические растворители в методах жидкостной микроэкстракции
для анализа объектов со сложной матрицей»**

По представлению начальника научно-исследовательского отдела (медико-биологических исследований) д.м.н. доцента Глушакова Р.И. проблемная комиссия № 5, созданная приказом начальника Военно-медицинской академии от 25 декабря 2023 года № 691, определила, что результаты докторской диссертации Шишова А.Ю. на тему: «Эвтектические растворители в методах жидкостной микроэкстракции для анализа объектов со сложной матрицей» на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.2 – Аналитическая химия, могут быть эффективно использованы для анализа растительных, биологических и фармацевтических объектов с целью определения биологически активных и лекарственных веществ, что открывает новые возможности в области медицинского химического анализа.

Председатель комиссии:
доктор медицинских наук профессор



В. Бадалов



ФГБВОУ ВО "Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова" Минобороны РФ
194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6.

