

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи



Шишов Андрей Юрьевич

Эвтектические растворители
в методах жидкостной микроэкстракции

1.4.2. Аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
доктора химических наук

Саратов – 2024

Работа выполнена
в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего
образования
«Санкт-Петербургский государственный университет»

Научный консультант: **Булатов Андрей Васильевич**
доктор химических наук, профессор РАН

Официальные оппоненты: **Апяри Владимир Владимирович**
доктор химических наук, Федеральное государственное бюджетное об-
разовательное учреждение высшего образования «Московский госу-
дарственный университет имени М.В. Ломоносова», главный научный
сотрудник кафедры аналитической химии

Гармонов Сергей Юрьевич

доктор химических наук, профессор, федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ка-
занский национальный исследовательский технологический универси-
тет» Министерства науки и высшего образования Российской Федера-
ции, профессор кафедры органической и медицинской химии

Доронин Сергей Юрьевич

доктор химических наук, профессор, Федеральное государственное
бюджетное образовательное учреждение высшего образования «СГУ
имени Н.Г. Чернышевского», профессор кафедры аналитической хи-
мии и химической экологии

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ордена
Ленина и Ордена Октябрьской Революции Институт геохимии и ана-
литической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук

Защита состоится «27» февраля 2025 г. в 14 00 часов на заседании диссертационного
совета 24.2.392.03, созданного на базе Саратовского национального исследовательского
государственного университета имени Н.Г. Чернышевского по адресу: 410012, г. Саратов,
ул. Астраханская, 83, СГУ, корп. 1, Институт химии.

С диссертацией можно ознакомиться в зональной научной библиотеке им. В.А. Артисе-
вич ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» (410601, Саратов, ул. Университетская,
42) и на сайте: https://www.sgu.ru/sites/default/files/2024-11/Диссертация%20Шишов_0.pdf

Автореферат разослан «__» _____ декабря 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор химических наук

Русанова Татьяна Юрьевна



ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ

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 разрушение 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, концентрированию 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 четверичных 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 Carapica 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 квартала.

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).

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований, их обсуждения, выводов, списка литературы, включающего 306 источников. Работа изложена на 356 страницах машинописного текста, иллюстрирована 87 рисунками и 50 таблицами.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** аргументируется актуальность работы в области исследования ЭР как экстрагентов и растворителей-диспергаторов в методах ЖМЭ для анализа объектов со сложной матрицей. Обсуждаются возможности различных микроэкстракционных методов, основанных на применении ЭР. Формулируются цель и задачи исследования.

Глава 1. Обзор литературы

В первой главе представлен обзор литературы, включающий обсуждение современных достижений в области разработки и исследований ЭР. Представлена существующая классификация ЭР по природе их прекурсоров. Описываются основные подходы, применяемые для изготовления ЭР. Обсуждаются типичные ошибки, связанные с неправильным трактованием механизмов экстракции в гидрофильные ЭР. Особое внимание уделяется возможностям применения ЭР в методах разделения и концентрирования и в других областях аналитической химии. Обосновывается выбор классов ЭР для дальнейших исследований. Представлены принципы, возможности и ограничения метода ДЖМЭ. Также отдельный раздел обзора литературы посвящен описанию проточных методов, применяемых для автоматизации ЖМЭ.

В заключении первой главы обосновывается актуальность разработки системного подхода к микроэкстракционному выделению и концентрированию полярных и неполярных веществ из объектов со сложной матрицей с применением ЭР для последующего их определения различными методами анализа.

Глава 2. Методика экспериментальных исследований

Во второй главе приведено описание средств измерения, оборудования, реактивов и материалов. Приведен список веществ, используемых для

изготовления ЭР и список анализов. Описаны условия реализации химического анализа.

Глава 3. Устойчивость ЭР при контакте с водной фазой

Первые предложенные в литературе ЭР состояли из полярных водорастворимых веществ и назывались гидрофильными. Они преимущественно нашли применение для выделения и концентрирования анализов из твердофазных и 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 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 были получены ИК-спектры и изучены физико-химические свойства (кинематическая вязкость, плотность) гидрофильных ЭР на основе холина хлорида и карбоновых кислот (лимонная, винная, яблочная, гликолевая, малоновая и молочная) с содержанием воды до 50 %.

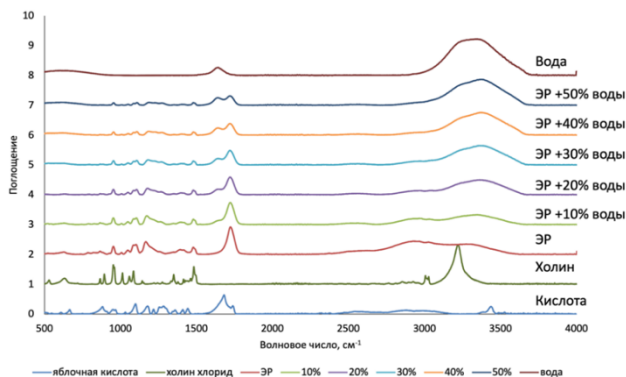


Рисунок 1 – ИК спектры яблочной кислоты, холина хлорида, ЭР на основе яблочной кислоты и холина хлорида 1/1 моль с разным содержанием воды от 0 до 50 % и воды

На Рисунок 1 представлены ИК-спектры ЭР на основе холина хлорида, яблочной кислоты с различным содержанием воды и исходных прекурсоров. Установлено, что положение некоторых характерных полос карбоновой кислоты и холина хлорида существенно изменяются при образовании ЭР. 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} (вещерные 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

На Рисунок 1 представлены ИК-спектры ЭР на основе холина хлорида, яблочной кислоты с различным содержанием воды и исходных прекурсоров. Установлено, что положение некоторых характерных полос карбоновой кислоты и холина хлорида существенно изменяются при образовании ЭР.

связано с образованием двух димерных ассоциатов двухосновной яблочной кислоты с парой соседних молекул, расположенных в разных плоскостях. Однако при образовании ЭР эта полоса сужается и смещается до 1721 см^{-1} . Это связано с частичным разрушением димеров с образованием новых водородных связей между «свободными» -C=O и -OH группами кислоты и хлорид-ионом или -OH группой холина хлорида. Это предположение подтверждается заметными изменениями в полосе колебаний -OH -групп яблочной кислоты в области $3300\text{--}2500\text{ см}^{-1}$ и сдвигом интенсивной полосы при 3220 см^{-1} (-OH) для хлорида холина. В результате в спектре ЭР появляется широкая полоса с максимумом при 3347 см^{-1} . Также стоит отметить сдвиг полос поглощения в холине с 1481 (CH_2 , -C-OH) до 1478 см^{-1} , с 1141 (C-O) до 1100 см^{-1} , с 1011 (торсионные колебания $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$) до 1004 см^{-1} . Также, в спектре ЭР наблюдается значительное увеличение поглощения при 1393 см^{-1} , что может быть связано с суперпозицией и сдвигом полос при 1408 см^{-1} (-OH , C=O) для кислоты, а также при 1376 и 1349 см^{-1} (N-C) для холина хлорида. Все вышеперечисленное указывает на сильное взаимодействие между компонентами за счет образования водородных связей. В случае с другими кислотами ситуация была схожей.

Добавление воды к ЭР (холин хлорид, яблочная кислота) во всем изученном диапазоне не приводило к изменению положения полос поглощения, соответствующих гидроксильным и карбоксильным группам кислоты и холина хлорида, что может указывать на незначительное влияние воды на взаимодействие функциональных групп внутри ЭР. Некоторые изменения наблюдались при 1636 см^{-1} и $3000\text{--}3500\text{ см}^{-1}$, что связано с образованием новых водородных связей между водой и компонентами ЭР. Таким образом, вода встраивается в структуру ЭР как прекурсор без ее разрушения (до 50 %).

На следующем этапе было изучено влияние воды в составе ЭР на кинематическую вязкость, так как она оказывает влияние на массоперенос в процессе экстракции. Как видно из представленных данных (Рисунок 2), в безводных системах значения вязкости значительно выше, чем у ЭР, содержащих воду. Так, при добавлении 10 % воды в ЭР на основе холина хлорида и лимонной кислоты вязкость снижается более чем в 1200 раз. Высокая вязкость ЭР объясняется наличием сильных межмолекулярных взаимодействий: преимущественно за счет сетки водородных связей и, в меньшей степени, Ван-дер-Ваальсовыми взаимодействиями, а также электростатическими взаимодействиями, приводящих к уменьшению подвижности молекул в смеси. Так как лимонная кислота имеет три карбоксильные группы и одну гидроксильную, а у малоновой кислоты всего две карбоксильные, то ЭР на основе лимонной кислоты будет обладать большей вязкостью. Постепенное уменьшение вязкости при увеличении содержания воды в ЭР до 50 % подтверждает факт, что вода встраивается в структуру постепенно ЭР без резкого разрушения последнего.

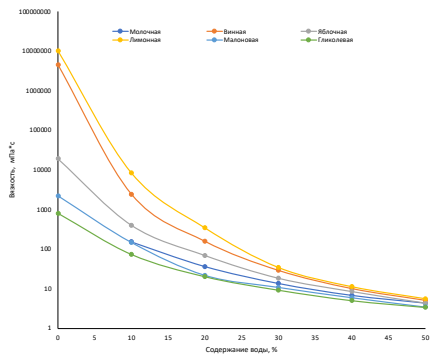


Рисунок 2 – Зависимость вязкости ЭР на основе карбоновых кислот от массового содержания воды

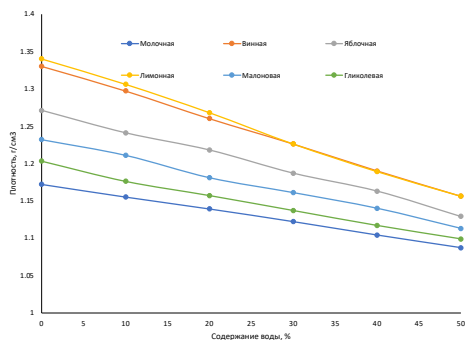


Рисунок 3 – Зависимость плотности ЭР на основе карбоновых кислот от массового содержания воды

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 3). 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. Таким образом, изученные трёхкомпонентные гидрофильные ЭР обладают меньшей вязкостью по сравнению с двухкомпонентными, что делает их более эффективными для выделения (и концентрирования) аналитов из твердофазных и органических объектов анализа, а также для автоматизации ЖМЭ.

В литературе также показана возможность выполнения гомогенной ЖМЭ из водных растворов с применением гидрофильных ЭР на основе холина хлорида и его производных. Разработанные методы включают растворение ЭР в водной фазе с последующим разделением фаз при введении апротонного полярного растворителя. В этих работах утверждается, что массоперенос выполняется в выделенную 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. Для исследования стабильности гидрофильного ЭР на основе холина хлорида (акцептор водородной

связи) в качестве донора водородной связи был выбран фенол (мольное соотношение 1:4). После смешения ЭР с водной фазой при соотношении 1:10 (ЭР:вода) для разделения фаз вводили тетрагидрофуран (апротонный полярный растворитель). Состав полученных фаз устанавливали методами ГХ-ПИД, ИХ-КД и кулонометрического титрования по Карлу Фишеру. Установлено, что органическая фаза содержит фенол ((57±5) %), тетрагидрофуран ((38±4) %) и воду ((5,2±0,7) %). Холин хлорид преимущественно содержится в водной фазе, где происходит его диссоциация. Полученные результаты подтвердили процесс разрушения гидрофильного ЭР на основе холина хлорида и фенола. В этом случае нецелесообразно применять ЭР в качестве экстрагента, т.к. массоперенос выполняется не в фазу ЭР, а в смесь донора водородной связи, апротонного полярного растворителя и воды.

Следующим поколением экстрагентов стали «гидрофобные» ЭР на основе четвертичных аммониевых соединений и терпеноидов в качестве акцептора водородной связи и жирных кислот в качестве доноров. Однако четвертичные аммониевые соединения могут диссоциировать в водной фазе инициируя разрушение ЭР. В наших исследованиях впервые было высказано предположение о возможном разрушении данных ЭР при контакте с водной фазой. Для выполнения исследований были изготовлены ЭР на основе тетрабутиламмония и тетраоктиламмония бромиды, тимола и ментола (акцепторы водородной связи), и гексановой, гептановой, октановой, нонановой и декановой кислот (доноры водородной связи). Выбранные ЭР широко применяются в качестве экстрагентов из водных растворов. ЭР были приготовлены при смешении их прекурсоров (акцептор водородной связи : донор водородной связи) в мольном соотношении 1:2.

После контакта данных ЭР с водной фазой при соотношении 1:1 выполнялось разделение фаз и их исследование различными методами. Установлено, что все изученные ЭР изменяют свой состав при контакте с водной фазой: наблюдается обогащение фазы ЭР водой и уменьшение содержания в ней акцептора водородной связи при использовании четвертичных аммониевых соединений (Рисунки 4 – 7). Наибольшая концентрация воды и наименьшее содержание акцептора водородной связи установлены в фазах ЭР на основе тетрабутиламмония бромиды и высших карбоновых кислот (Рисунок 4). В этом случае наблюдается ионизация тетрабутиламмония бромиды в водной фазе с частичным разрушением ЭР при соотношении фаз 1:1. Состав остальных растворителей изменяется меньше. При этом наиболее устойчивыми являются ЭР на основе терпеноидов (Рисунки 6 – 7), которые обладают наименьшей растворимостью в водной фазе. Кроме того, было изучено влияние соотношения фаз на устойчивость выбранных ЭР (Рисунки 8, 9). Соотношение фаз (ЭР – вода) варьировалось в диапазоне от 1:1 до 1:100. Выявлено, что уже при 5-кратном избытке водной фазы происходит практически полное разрушение ЭР на основе тетрабутиламмония бромиды (Рисунок 8). В этом случае экстракция происходит

не в фазу ЭР, а в высшую карбоновую кислоту, которая образуется в результате разрушения ЭР в водной фазе. Такие ЭР предложено нами называть «квазигидрофобными». Остальные растворители при избытке водной фазы насыщаются водой с образованием устойчивых трехкомпонентных ЭР.

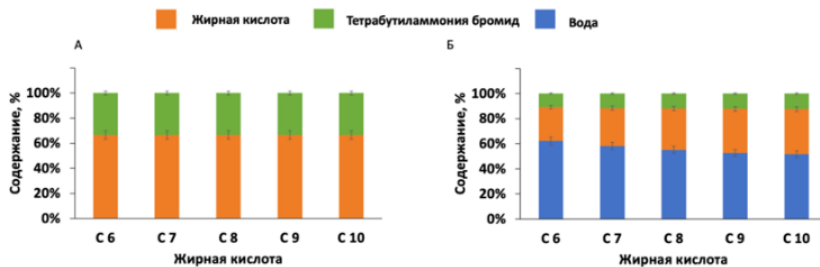


Рисунок 4 – Состав ЭР на основе тетрабутиламмония бромид и жирных кислот до (А) и после (Б) контакта с водной фазой (соотношение фаз 1:1)

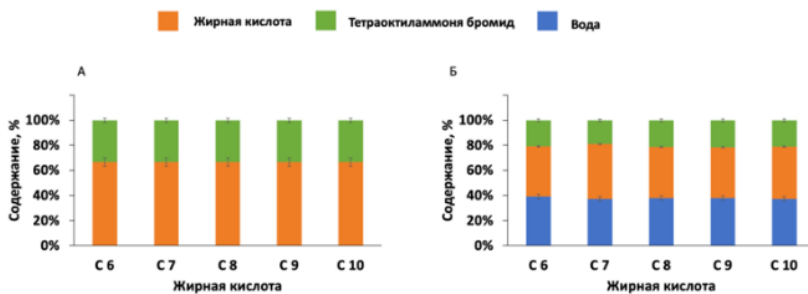


Рисунок 5 – Состав ЭР на основе тетраоктиламмония бромид и жирных кислот до (А) и после (Б) контакта с водной фазой (соотношение фаз 1:1)

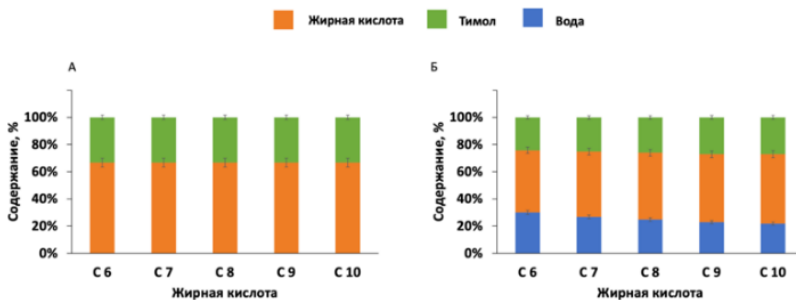


Рисунок 6 – Состав ЭР на основе тимола и жирных кислот до (А) и после (Б) контакта с водной фазой (соотношение фаз 1:1)

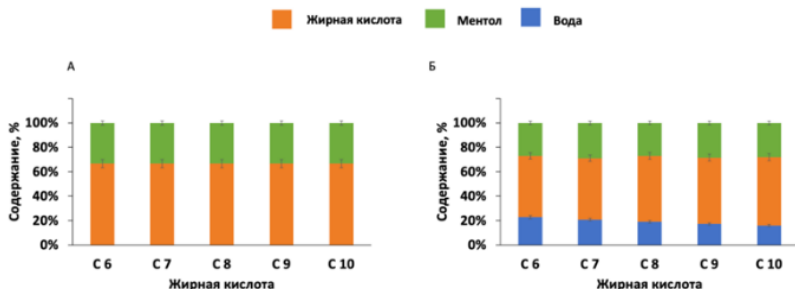


Рисунок 7 – Состав ЭР на основе ментола и жирных кислот до (А) и после (Б) контакта с водной фазой (соотношение фаз 1:1)

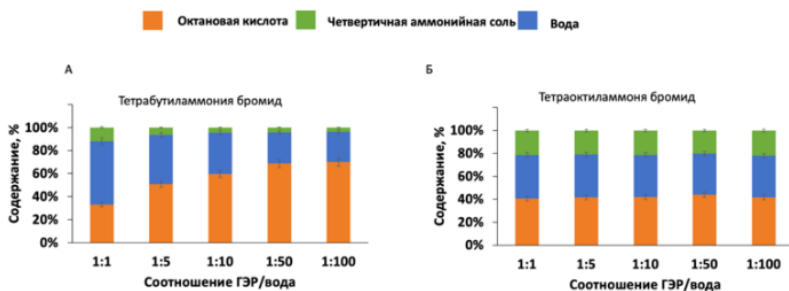


Рисунок 8 – Состав ЭР на основе тетрабутиламмония бромид и октановой кислоты (А); тетраоктиламмония бромид и октановой кислоты (Б) после контакта с водной фазой при различном соотношении фаз

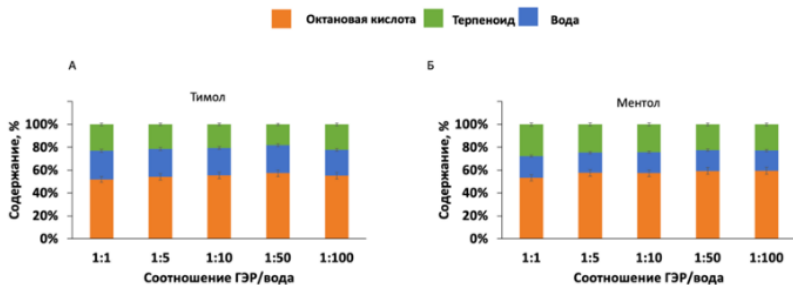


Рисунок 9 – Состав ЭР на основе тимола и октановой кислоты (А); ментола и октановой кислоты (Б) после контакта с водной фазой при различном соотношении фаз

В таком случае вода должна рассматриваться как компонент ЭР, который влияет на физико-химические свойства растворителя (например, вязкость). Содержание воды в органических фазах на основе терпеноидов было почти в два раза меньше, чем в органических фазах на основе четвертичных аммониевых солей. Установлено, что гидрофобность донора водородной связи влияет на содержание воды в фазе ЭР. С увеличением длины углеводородной цепи карбоновой кислоты (с С6 до С10) содержание воды в органических фазах снижалось с 30 до 22 мол. % для ЭР на основе тимола и с 23 до 16 мол. % для ЭР на основе ментола. В то же время ЭР на основе тимола ($\lg K_{ow}$ 3,3) содержали больше воды, чем ЭР на основе ментола ($\lg K_{ow}$ 3,4), из-за более высокой полярности тимола. Таким образом, содержание воды в трехкомпонентных ЭР зависит от полярности прекурсоров и может варьировать в широком диапазоне (от 16 мол. % для ЭР, содержащих ментол, до 62 мол. % для ЭР, содержащих тетрабутиламмоний бромид). Высокое содержание воды в фазе ЭР может улучшить его экстракционные свойства по отношению к полярным анализам. Такая возможность была показана в способах ЖМЭ экстракционного выделения металлов из органических жидкостей (Глава 6).

На основании проведенных исследований стабильности различных ЭР при контакте с водной фазой была предложена их новая классификация. ЭР можно разделить на три класса: гидрофобные (1), квазигидрофобные (2), гидрофильные (3). Изученные в работе ЭР представлены в Таблице 1. Предложенная классификация ЭР была представлена в обзорной статье автора «Deep eutectic solvents are not only effective extractants». Подобная классификация и пониманием поведения различных классов ЭР при контакте с водной фазой позволяет более обоснованно выбирать конкретные ЭР для решения задач химического анализа 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 – ЖМЭ из водных растворов, в т.ч. основанной на *in situ* образовании экстрагента и дериватизации целевых анализитов в присутствии прекурсоров ЭР.

Таблица 1 – 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, 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. ДЖМЭ с применением ЭР

Экспрессным методом пробоподготовки является ДЖМЭ, которая основана 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 растворители (например, метанол, ацетонитрил), в присутствии которых увеличивается растворимость целевых аналитов в водной фазе и снижаются их степени извлечения. Для устранения ограничений были предложены варианты реализации ДЖМЭ с использованием ЭР.

Реализована *ДЖМЭ с применением гидрофильных ЭР в качестве растворителей-диспергаторов*. Данный способ устранил необходимость использования полярных органических растворителей-диспергаторов. В этом случае ЭР могут быть изготовлены из соединений, которые позволяют улучшить массоперенос аналитов в фазу экстрагента.

Такую возможность подтвердили на примере выделения и концентрирования бисфенола А из пищевых продуктов в высшие спирты (от гептанола до деканола) для последующего определения методом ВЭЖХ-ФЛД. В качестве растворителей-диспергаторов применяли метиловый, этиловый, изопропиловый спирты, ацетон, ацетонитрил, муравьиную кислоту и гидрофильные ЭР на основе тетрабутиламмония бромид (акцептор водородной связи) и муравьиной и уксусной кислот, этиленгликоля и глицерина (доноры водородной связи).

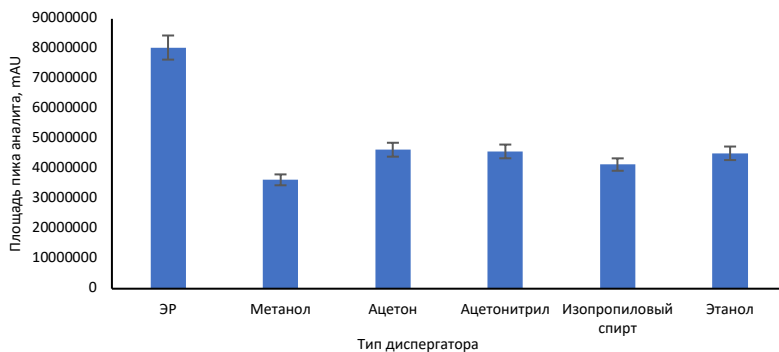


Рисунок 10 – Влияние растворителя-диспергатора на аналитический сигнал бисфенола А (n=3, С аналита 1 мг/л)

Установили, что при использовании ЭР (тетрабутиламмония бромид, муравьиная кислота) эффективность микроэкстракции в высшие спирты в некоторых случаях возрастает в два раза (Рисунок 10). Аналитические характеристики разработанного способа ВЭЖХ-ФЛД определения бисфенола А в пищевых продуктах представлены в Таблице 2. Достигнутый ПО (3 мкг/л) меньше максимально допустимой концентрации (1 мг/л). Для подтверждения правильности получаемых результатов выполнялся анализ реальных объектов

(безалкогольные напитки) и проб с добавками аналита. Относительное смещение не превышало 10 %. Квазигидрофобные ЭР также разрушаются при контакте с водной фазой, однако при этом выделяется фаза, обогащенная неполярным компонентом ЭР, которая может быть использована в качестве экстрагента. При этом выделяемая фаза меньше по объему исходного объема ЭР, что обеспечивает концентрирование. В этом случае применение дополнительного растворителя-диспергатора не требуется. Такой подход был реализован в способе *ДЖМЭ с применением квазигидрофобных ЭР* для выделения эстрадиола из лекарственных препаратов для его последующего ВЭЖХ-УФ определения. Изучены ЭР, содержащие тетрабутиламмония бромид и жирные спирты (гептанол, октанол, деканол, додеканол) в различном мольном соотношении. Наибольшую эффективность массопереноса эстрадиола из водной фазы и наименьшее значение ОСКО обеспечил ЭР на основе тетрабутиламмония бромида и гептанола в мольном соотношении 1:2 (Рисунок 11).

Для установления состава образующихся фаз в процессе ДЖМЭ выполняли их химический анализ. Установили, что в водной фазе содержится (85 ± 2) % исходного тетрабутиламмония бромида. Содержание гептанола и воды в органической фазе составляло (78 ± 2) % и $(7,01 \pm 0,07)$ % соответственно. На основании этих результатов можно сделать вывод, что механизм экстракции связан с разрушением ЭР вследствие растворения в водной фазе тетрабутиламмония бромида, который выступает как диспергирующий агент.

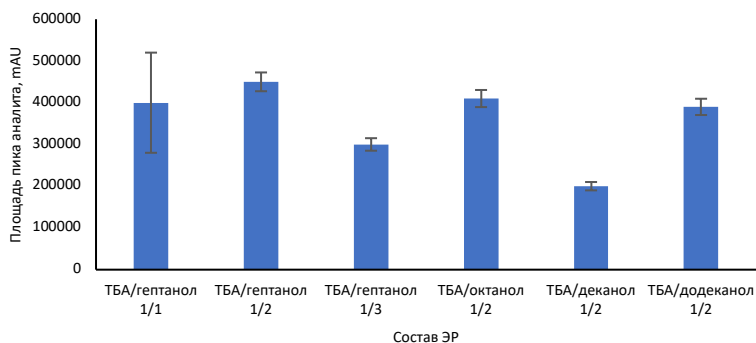


Рисунок 11 – Влияние состава ЭР на степень извлечения эстрадиола из водной фазы (n=3, С аналита 10 мг/л, ТБА – тетрабутиламмоний бромид)

Для подтверждения эффективности предложенного подхода выполняли извлечение эстрадиола в гептанол в присутствии других растворителей-диспергаторов (ацетон, ацетонитрил, метанол и изопропиловый спирт). Во всех случаях эффективность экстракции была ниже, чем в ЭР (Рисунок 12). Аналитические характеристики разработанного способа ВЭЖХ-УФ определения

эстрадиола в лекарственных препаратах представлены в Таблице 2. Степень извлечения аналита составила $(95\pm 5)\%$. Для подтверждения правильности выполнялся анализ лекарственных препаратов и проб с добавками аналита. Относительное смещение не превышало 8 %.

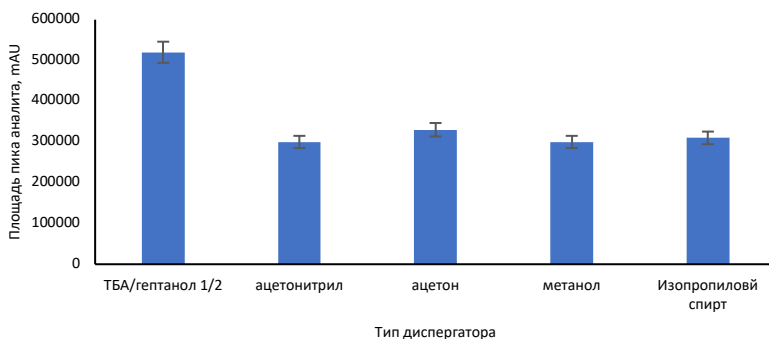


Рисунок 12 – Влияние типа диспергатора на степень извлечения эстрадиола из водной фазы. (n=3, С аналита 10 мг/л) ТБА – тетрабутиламмоний бромид)

С целью расширения аналитических возможностей ДЖМЭ с точки зрения возможных объектов анализа был предложен способ для подготовки твердофазных проб. Для этого была разработана *двухстадийная процедура*, включающая извлечение целевых аналитов в фазу квазигидрофобного ЭР 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. Гексановая, гептановая, октановая и декановая кислоты были исследованы в качестве прекурсоров ЭР и экстрагентов. Для этого подкисленный водный раствор аналитов (рН 2) смешивали с ЭР на основе тетрабутиламмония бромидом и жирных кислот (1:2), что приводило к его разрушению, центрифугировали, а затем органическую фазу анализировали методом ВЭЖХ-УФ. Установлено, что с увеличением длины углеводородной цепи жирной кислоты происходит снижение эффективности экстракции, поскольку сульфаниламиды ($\lg K_{ow} 0,76-0,89$) являются полярными соединениями и более эффективно экстрагируются в более полярные растворители (Рисунок 13). В качестве экстрагента и компонента ЭР была выбрана гексановая кислота. Данный ЭР был изучен и для извлечения антибиотиков из куриного мяса. Для этого пробу мяса с добавкой антибиотиков смешивали с ЭР и нагревали в течение 60 мин при 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 выделяемую фазу гексановой кислоты.

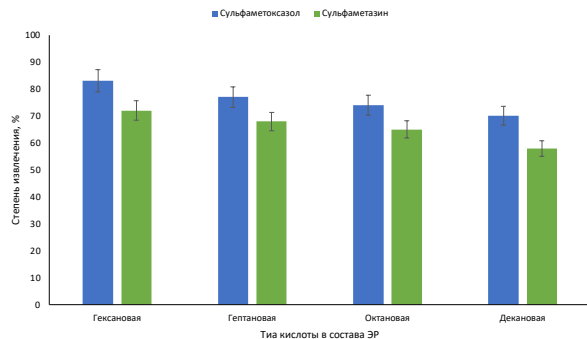


Рисунок 13 – Влияние природы карбоновой кислоты в составе ЭР на степень извлечения сульфаниламидов из водной фазы (n=3, С аналита 1 мг/л)

Полученные трехкомпонентные ЭР обладали меньшей вязкостью и обеспечили эффективный массоперенос. При этом, малоновая кислота, как наиболее сильная (рКа (I) 1,38), обеспечила необходимую кислотность водной фазы (рН 2) для реализации второго этапа ДЖМЭ сульфаниламидов из водного раствора. Достигнутые пределы обнаружения (0,3 и 0,7 мкг/к, Таблица 2) позволяют определять аналиты меньше максимально допустимой концентрации (0,1 мкг/кг). Для подтверждения правильности выполняли анализ реальных объектов и проб с давками сульфаниламидов, а также использовали независимую процедуру. Полученные результаты показали, что компоненты реальной пробы, такие как белки и жиры, не оказывают существенного влияния на степень извлечения, и относительное смещение не превышало 14 %.

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. Это открывает возможности использования предложенного способа для анализа органических проб. Это позволило реализовать способ *обращено-фазовой ДЖМЭ 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 ИВА.

Для реализации метода изучили трехкомпонентные ЭР на основе тимола или ментола, муравьиной или уксусной кислот и воды. Процедура ДЖМЭ предполагала введение ЭР (300 мкл) в пробу масла (5 мл) для образования эмульсии. Вода в составе ЭР выступала как инициатор разделения фаз. При контакте ЭР с фазой масла происходило разрушение ЭР и образование водной

Установлено, что данный ЭР обеспечивал низкую эффективность извлечения аналитов из твердофазной пробы (40-50 %). Для повышения эффективности извлечения аналитов в фазу ЭР был введен третий компонент – гидрофильный донор водородной связи (карбоновые кислоты, многоатомные спирты).

фазы. При этом терпеноид растворялся в фазе масла. Карбоновая кислота в составе выделяемой водной фазы выступала и в качестве экстрагента для выделения металлов и в качестве фонового электролита для последующего электрохимического детектирования. Нижнюю фазу экстракта отбирали и анализировали методом ИВА с применением печатного электрода. Все изученные ЭР обеспечили сопоставимые степени извлечения свинца и кадмия из растительного масла (Рисунок 14). Достигнуты коэффициенты концентрирования свинца и кадмия 36 и 39 соответственно, обеспечивающие возможность определения следовых концентраций металлов ПО 0,01 и 0,006 мкг/кг для свинца и кадмия (Таблица 2). Способ исключил необходимость выполнения микроволновой минерализации масел.

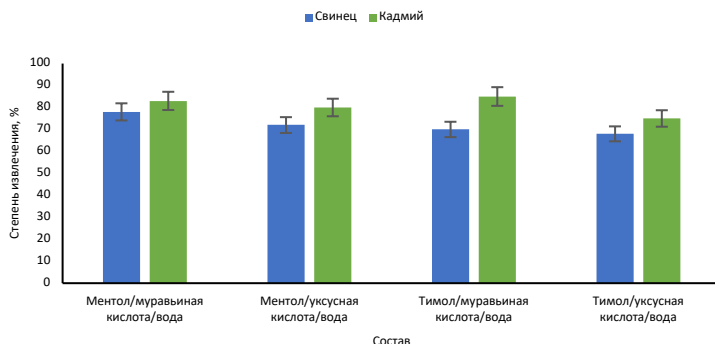


Рисунок 14 – Влияние состава ЭР на степень извлечения металлов из пищевого масла (n=3, С аналита 1 мкг/кг)

Таким образом, для выделения и концентрирования полярных и неполярных аналитов из сложных, в том числе твердофазных объектов, предложили способы ДЖМЭ с использованием гидрофильных и квазигидрофобных ЭР, которые позволяют устранить необходимость использования полярных растворителей-диспергаторов и повысить эффективность процесса за счет снижения растворимости аналитов в пробе.

Глава 5. Жидкостная микроэкстракция с *in situ* образованием ЭР

Для снижения трудозатрат и расхода реагентов при выполнении ЖМЭ предложены подходы, основанные на *in situ* образовании гидрофобных ЭР в процессе пробоподготовки, а не в предварительно приготовленные экстрагенты. При этом как аналиты, так и компоненты матрицы пробы могут выступать в качестве прекурсоров ЭР.

В работе показана возможность выделения и концентрирования лекарственных веществ (диклофенака и кетопрофена) из биологической жидкости (моча) за счет образования ЭР в процессе микроэкстракции, когда аналиты и терпеноид (ментол) являются компонентами ЭР. Процедура микроэкстракции предполагает нагревание пробы (рН = 3,8) с ментолом (50 мг) при 45 °С в течение 3 мин.

На Рисунке 15 представлены ИК-спектры ментола, диклофенака (Н⁺-форма) и образовавшегося ЭР. Валентные колебания -ОН группы в ментоле наблюдались при 3246 см⁻¹, а в случае образования ЭР пик смещался до 3263 см⁻¹. При этом валентные колебания связи С=О в диклофенаке сместились с 1965 см⁻¹ до 1703 см⁻¹. Полоса колебаний карбонильной группы диклофенака становится менее интенсивной в системе ментол : диклофенак в результате взаимодействия этой группы с -ОН-группой ментола, что подтверждает образование водородной связи между группами. Выделенные экстракты (после центрифугирования) анализировали методом ВЭЖХ-УФ. Способ обеспечил ПО диклофенака и кетопрофена 44 и 51 мкг/л (Таблица 3). Правильность получаемых результатов была подтверждена анализом проб с добавками и независимой методикой. Относительное смещение не превышало 10 %. Для выполнения пробоподготовки требовалось добавление только одного компонента ЭР – природного терпеноида (50 мг).

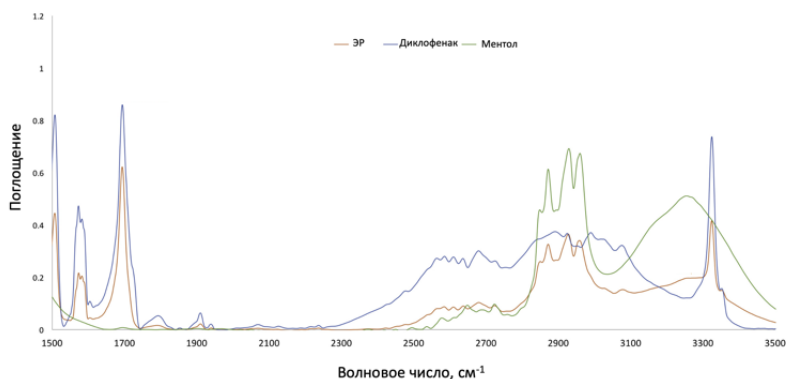


Рисунок 15 – ИК спектр ментола, диклофенака и эвтектического растворителя на их основе

Таблица 2 – Аналитические характеристики разработанных способов количественного анализа реальных объектов, включающих ДЖМЭ с применением ЭР

Объект анализа	Аналиты	Компоненты ЭР	Тип ЭР	Метод анализа	ПО	Линейный диапазон	ОСКО (n=6), %
Пищевой продукт (напитки)	Бисфенол А	Тетрабутиламмоний бромид /муравьиная кислота	Гидрофильный	ВЭЖХ-ФЛ	0,0003 мг/л	0,001-1 мг/л	5
Фармацевтические препараты	Эстрадиола	Тетрабутиламмоний бромид / гептанол	Квазигидрофобный	ВЭЖХ-УФ	0,15 мг/л	0,5-100 мг/л	6
Пищевой продукт (мясо)	Сульфаниламиды	Тетрабутиламмоний бромид /малоновая кислота /гептановая кислота	Квазигидрофобный	ВЭЖХ-УФ	3 мкг/кг (сульфаметоксазол) 7 мкг/кг (сульфаметазин)	9-500 мкг/кг (сульфаметоксазол) 21-1000 мкг/кг (сульфаметазин)	14
Растительное масло	Pb, Cd	Ментол/ муравьиная кислота	Квазигидрофобный	ИВА	0,01 мгк/кг (Pb) 0,006 мкг/кг (Cd)	0,03-50 мкг/кг (Pb) 0,02-50 мкг/кг (Cd)	6

Для выделения и концентрирования аналитов (диклофенака и кетопрофена) из твердофазных проб (говяжья печень) разработана двухстадийная процедура, включающая *in situ* образование гидрофобных ЭР. Так как диклофенак (рКа 4,15) и кетопрофен (рКа 3,39) склонны к ионизации в щелочной среде, в качестве экстрагента для их извлечения из твердой пробы был выбран раствор карбоната натрия, который обеспечил эффективный массоперенос аналитов из тканей, а при смешивании приготовленной вытяжки со смесью ментола и муравьиной кислоты реагировал с последней с образованием углекислого газа. В результате в водном растворе углекислый газ диспергировал фазу ментола, при этом наблюдалось образование ЭР на основе ментола и аналитов. Экстракты после центрифугирования анализировали методом ВЭЖХ-МС. На основании полученных результатов выбраны следующие условия пробоподготовки: соотношение ментола и муравьиной кислоты (1:40), масса пробы (500 мг), объем и концентрация раствора карбоната натрия (5 мл, 1 моль/л), время и температура извлечения аналитов (20 мин, 50 °С). ПО кетопрофена и диклофенака составили 0,1 и 0,3 мг/кг (Таблица 3). Правильность получаемых результатов была подтверждена независимой методикой.

Жидкостная микроэкстракция с применением мембран и вращающихся дисков позволяет сократить расход экстрагентов (миниатюризация), повысить селективность, т. к. мембраны могут ограничивать массоперенос макромолекул в фазу экстрагента, а также упростить процедуру за счет отсутствия стадии центрифугирования. Для миниатюризации микроэкстракции, основанной на *in situ* образовании гидрофильных ЭР с аналитом, были разработаны методические приемы с применением *импрегнированных мембран и вращающихся дисков*.

Первый способ был реализован для определения фенола и его производных в твердых копченых пищевых продуктах. Для реализации способа хлорид растворяли в метаноле и полученный раствор наносили на полимерную мембрану. После испарения растворителя мембрану помещали в суспензию пробы в гексане. Выделение фенола и его производных происходило за счет образования ЭР на мембране. После элюирования аналитов водой выполняли их определение в элюате методом ВЭЖХ-ФЛД. Изучено влияние материала мембраны (ацетат целлюлозы, нейлон, полиэфирсульфон и полиэтилентетрафторид с добавкой поливиниленидифторида (ПВДФ)) на эффективность экстракции. Установлено, что максимальное извлечение аналитов (Рисунок 16) происходит при использовании мембраны ПВДФ, что связано с ее большей пористостью (0,45 мкм). Для подтверждения образования ЭР на поверхности мембраны были получены ИК-спектры.

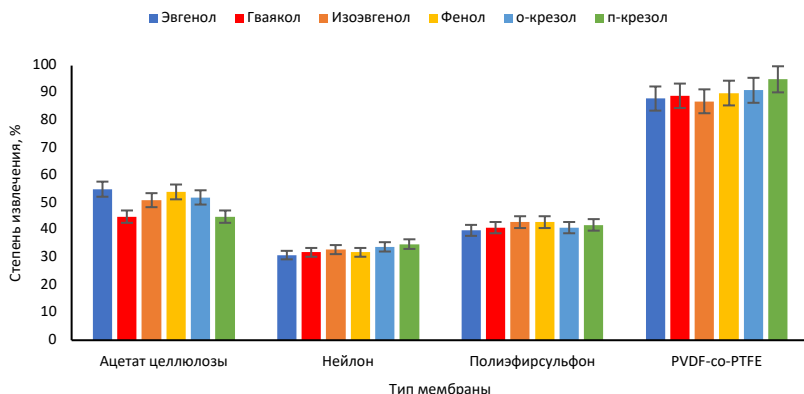


Рисунок 16 – Влияние типа мембраны на степень извлечения производных фенола из раствора (n=3, C аналитов 20 мг/л)

После модификации мембраны в ИК-спектре наблюдаются полосы, отвечающие за колебания -ОН групп в диапазоне 3200-3400 см⁻¹ и групп С-N⁺ при 950 см⁻¹. После экстракции фенола наблюдается появление новых полос поглощения, характерных для групп фенола С-О и С=C, а также наблюдается изменение в области пика поглощения связи -ОН, что вызвано образованием водородных связей между фенолом и хлоридом холина. Достигнуты ПО 0,001-0,003 мг/кг (Таблица 3). Для подтверждения эффективности способа выполняли анализ реальных проб твердых копченых пищевых продуктов. Полученные результаты показали, что матрица пробы не оказывает существенного влияния на степень извлечения, и относительное смещение не превышает 8 %.

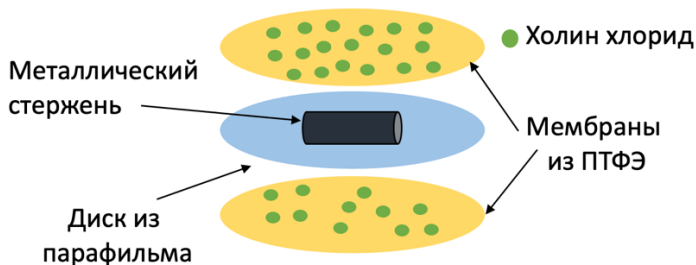


Рисунок 17 – Схема изготовления вращающегося диска

Для интенсификации процесса извлечения выполняли иммобилизацию холина хлорида на поверхности вращающегося диска, изготовленного из ПВДФ. Диски были оснащены металлическими стержнями для их вращения под

действием магнитного поля в фазе пробы (Рисунок 17). Вращающиеся диски применяли для выделения полифенольных соединений (галловой, протокатеховой, ванилиновой, п-кумариновой кислот, тирозола, сиреневого альдегида и тимола) из растительных масел. Образованный ЭР (холина хлорид и полифенольные соединения) элюировали с поверхности диска смесью дистиллированной воды и метанола для последующего анализа раствора методом ВЭЖХ-ФЛ. Для определения полифенольных соединений в оливковом и подсолнечном масле применяли одноразовые диски. Правильность получаемых результатов была подтверждена методом введено-найдено и независимой методикой, относительное смещение не превышает 10 % (Таблица 3).

Компоненты матрицы пробы могут также выступать в качестве прекурсоров для образования ЭР. Такая возможность была реализована для ЖМЭ неполярных аналитов (бисфенолов), включающей *in situ образования гидрофобных ЭР с компонентами матрицы пробы на вращающихся дисках*. В этом случае процессы образования ЭР, извлечения аналитов и разделения смеси выполняются одновременно. Данный способ был использован для ВЭЖХ-ФЛД определения бисфенолов в сухом молоке.

Для изготовления модифицированного диска (ПВДФ) терпеноид (ментол) помещали на его поверхность и нагревали до его температуры плавления (45 °С) в сушильном шкафу. После проведения стадии щелочного гидролиза триглицеридов молока и подкисления раствора в раствор пробы помещали диск, снабженный металлическим стержнем. Вращение диска обеспечивало перемешивание раствора с образованием ЭР на его поверхности за счет взаимодействия терпеноида и свободных жирных кислот, полученных из пробы, с одновременной экстракцией аналитов в фазу образующегося на диске ЭР. После проведения стадии экстракции диск помещали в раствор муравьиной кислоты для элюирования аналитов и полученный раствор анализировали методом ВЭЖХ-ФЛД. В качестве оптимальных условий были выбраны следующие условия пробоподготовки: масса ментола (10 мг), масса пробы (150 мг), концентрация раствора гидроксида натрия для щелочного гидролиза (2 моль/л), температура гидролиза (80 °С), время гидролиза (15 мин), время экстракции (5 мин) и время элюирования (2 мин).

Достигнуты ПО аналитов на уровне 0,3-0,5 мкг/кг для бисфенолов А, С и F, (Таблица 3) что позволяет определять их содержание ниже ПДК (10 мкг/кг).

Правильность получаемых результатов была подтверждена анализом проб с добавками и независимым методом. Относительное смещение не превышало 10 %. Предложенная процедура позволила реализовывать процесс извлечения аналитов из сложной матрицы пищевых продуктов с использованием только водных растворов реагентов и всего 10 мг ментола, а также объединила стадии извлечения аналитов и разделения эмульсий и устранила необходимость предварительного изготовления ЭР.

Таблица 3 – Аналитические характеристики разработанных способов количественного анализа реальных объектов, включающих *in situ* образование ЭР

Объект анализа	Аналиты	Компоненты ЭР	Тип ЭР	Метод анализа	ПО	Линейный диапазон	ОСКО (n=6), %
Биологические жидкости	Диклофенак и кетопрофен	Ментол /аналиты	Гидрофобный	ВЭЖХ-УФ	0,15 мкг/л (кетопрофен) 0,4 мкг/л (диклофенак)	0,4-75 мкг/л (кетопрофен) 1-100 мкг/л (диклофенак)	4
Пищевой продукт (говяжья печень)	Диклофенак и кетопрофен	Ментол /аналиты	Гидрофобный	ВЭЖХ-УФ	0,1 мкг/кг (кетопрофен) 0,3 мкг/кг (диклофенак)	0,3-100 мкг/л (кетопрофен) 0,9-100 мкг/л (диклофенак)	7
Пищевой продукт (копченые продукты)	Фенол, о-крезол, п-крезол, эвгенол, изоэвгенол и гваякол	Холин хлорид на мембране /аналиты	Гидрофильный	ВЭЖХ-ФЛ	0,3-0,6 мкг/кг	1(2)-1000 мкг/кг	5
Растительное масло	Галловая кислота, протокатеховая кислота, тирозол, ванилиновая кислота, п-кумаровая кислота, сиригновый альдегид и тимол	Холин хлорид на мембране /аналиты	Гидрофильный	ВЭЖХ-ФЛ	10-60 мкг/л	0,01(0,06)-100 мг/л	8
Пищевой продукт (сухое молоко)	Бисфенолы А, С, F	Ментол /жирные кислоты из пробы	Гидрофобный	ВЭЖХ-ФЛ	0,3 мкг/кг (Бисфенол А) 0,5 мкг/кг (Бисфенол С, F)	1 – 2000 мкг/кг (Бисфенол А) 1,5 – 2000 мкг/кг (Бисфенол С, F)	7

Глава 6. Реакционная микроэкстракция с применением ЭР

ЭР открывают новые возможности для реакционной ЖМЭ, основанной на взаимодействии функциональных групп компонентов ЭР с выделяемыми аналитами. В наших исследованиях предложены способы реакционной ЖМЭ, основанные на образовании комплексных соединений.

Одним из механизмов извлечения ионов металлов является образование их устойчивых комплексов в фазе экстрагента. Исследованы процессы *комплексообразования для извлечения ионов металлов (Co, Cu, Fe, Pb, и Zn) из жидких проб (растительные масла) с применением гидрофильных и квази-гидрофобных ЭР*. Для приготовления экстрагентов в качестве акцептора водородной связи использовали холин хлорид, а в качестве доноров выступили следующие соединения: кислоты (лимонная, винная, яблочная, малоновая, молочная, гликолевая, адипиновая, аскорбиновая, борная, малеиновая, муравьиная, уксусная, щавелевая, янтарная, бензойная, галловая, миндальная), спирты (1,4-бутандиол, глицерин, триэтиленгликоль, этиленгликоль, циклогексанол), мочевины, тиомочевина и бензамид, сахара (глюкоза, мальтоза, сахароза, сорбит, фруктоза).

Органическую фазу, содержащую металлы в виде их 2-этилгексанатов, смешивали с фазой ЭР и после выполнения ЖМЭ экстракты анализировали методом АЭС-ИСП. Установлено, что наибольшую степень извлечения проявляют ЭР на основе карбоновых кислот (Таблица 4). При этом молочная кислота в составе ЭР обеспечивает наибольшую эффективность экстракции большинства металлов. На втором месте по эффективности экстракции металлов были сахара, затем спирты и на последнем месте – мочевины и ее производные. Предполагается, что такая зависимость обусловлена протеканием процессов комплексообразования. Разработанный способ, основанный на извлечении металлов в фазу ЭР на основе холина хлорида и молочной кислоты, был использован для определения металлов в растительных маслах методом АЭС-ИСП. ПО для металлов составили 1-5 мг/л. Правильность результатов была подтверждена независимым способом и методом «введено-найдено». Смещение не превышало 10 %. В отличие от предложенных в литературе способов, разработанный способ не требует предварительной минерализации пробы с использованием микроволнового оборудования, а также концентрированных минеральных кислот. Кроме того, изучили *комплексообразование в среде гидрофильного ЭР для извлечения ионов металлов из твердофазных проб*. Для извлечения Cu, Cd, Co, Cr, Fe, Pb и Zn из проб ткани курицы приготовили ЭР на основе холина хлорида, кислот (молочная, лимонная, винная, гликолевая, малоновая, яблочная) и воды (40 %). Данные кислоты показали наибольшую эффективность экстракции.

Таблица 4 – Влияние донора водородной связи на степень извлечения металлов из пищевого масла (акцептор водородной связи – холин хлорид)

Донор водородной связи		Co	Cu	Fe	Pb	Zn
		Степень извлечения, %				
Кислоты	Молочная	91,4	96,3	92,3	77,3	95,3
	Винная	99,3	95,4	97,4	81,6	100,3
	Лимонная	95,3	98,5	91,3	31,8	100,4
	Миндальная	78,7	82,6	80,4	43,9	72,7
	Галловая	89,3	106,3	50,5	12,7	100,4
	Малоновая	80,5	82,4	81,5	49,8	77,3
	Щавелевая	97,3	91,3	96,3	13,7	100,5
	Бензойная	108,3	58,7	1,4	12,9	100,4
	Яблочная	65,4	86,4	77,6	14,4	84,6
	Муравьиная	80,3	84,5	51,9	18,3	60,6
	Адипиновая	86,4	84,8	6,6	<1	88,3
	Аскорбиновая	79,3	85,6	50,9	14,6	80,3
	Уксусная	83,3	91,4	5,8	<1	83,6
	Янтарная	55,8	89,5	11,8	<1	78,7
	Малеиновая	46,4	86,8	23,3	7,3	77,3
Борная	16,4	8,3	0,4	13,8	17,9	
Спирты	Триэтиленгликоль	20,3	20,6	1,5	<1	28,6
	Этиленгликоль	41,3	13,8	0,6	<1	44,8
	Циклогексанол	66,4	19,3	0,4	<1	63,4
	1,4 - бутандиол	38,5	19,9	0,3	<1	48,6
	Глицерин	22,7	5,4	0,4	<1	64,6
Амиды	Тиомочевина	17,5	88,4	0,6	<1	76,6
	Бензамид	15,6	2,5	0,4	<1	27,7
	Мочевина	18,5	7,5	0,5	<1	33,5
Сахара	Фруктоза	59,3	104,3	27,3	20,4	77,3
	Мальтоза	28,5	86,3	6,3	<1	38,4
	Сахароза	64,8	89,9	6,5	<1	63,7
	Глюкоза	12,3	27,3	0,4	<1	34,4
	Сорбит	33,3	31,4	0,3	<1	39,6

Извлечение проводили в УЗ-поле при нагревании пробы (100 мг) с ЭР (1 г) при 50 °С в течение 30 мин. Вытяжки анализировали методом АЭС-ИСП. Для извлечения металлов использовали насыщенные водные растворы исследуемых кислот и насыщенный водный раствор хлорида холина. Показано, что степени извлечения ионов металлов при использовании ЭР составили 80-90 %, что существенно выше, чем в случае использования водных растворов кислот (50-60 %) и раствора холина хлорида (45-60 %). Это связано с образованием смешанных комплексов. Наибольшая степень извлечения металлов наблюдается при использовании ЭР на основе молочной кислоты. Для изучения механизма ЖМЭ на примере меди были получены спектры поглощения в видимой области для водного раствора Cu^{2+} , раствора Cu^{2+} в насыщенном водном растворе молочной кислоты, в насыщенном водном растворе хлорида холина и в ЭР (хлорид холина/молочная кислота/вода). Из полученных спектров (Рисунок 18) видно, что в случае водного раствора и раствора молочной кислоты наблюдается широкая полоса в области 700-900 нм, соответствующая аквакомплексам и лактатам меди. В случае насыщенного раствора хлорида холина эта полоса уменьшается и появляется значительная полоса в области 500-600 нм, что соответствует комплексу $[\text{CuCl}_4]^{2-}$. В случае ЭР также присутствует эта полоса, а также полоса в области 700-900 нм. Таким образом, в случае ЭР можно предположить наличие смешанных комплексов меди, в состав которых входят как хлорид-ионы, молочная кислота и, возможно, молекулы воды. Кроме того, методом математического моделирования (теория функционала плотности) было подтверждено, что молекулы молочной кислоты и анионы Cl^- влияют на эффективность экстракции катионов Cu^{2+} – наблюдается уменьшение энергии Гиббса (Таблица 5).

Таблица 5 – Энергия Гиббса процессов комплексообразования ионов меди (II)

Моделируемый процесс	$\Delta G,$
$\text{Cu}^{2+} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Cu}^{2+} \cdots \text{H}_2\text{O}$	-96,5
$\text{Cu}^{2+} + \text{H}_2\text{O} + \text{молочная кислота} \rightarrow \text{молочная кислота} \cdots \text{Cu}^{2+} \cdots \text{H}_2\text{O}$	-272,8
$\text{Cu}^{2+} + \text{H}_2\text{O} + \text{молочная кислота} + \text{Cl}^- \rightarrow \text{Cl}^- \cdots \text{молочная кислота} \cdots \text{Cu}^{2+} \cdots \text{H}_2\text{O}$	-518,5

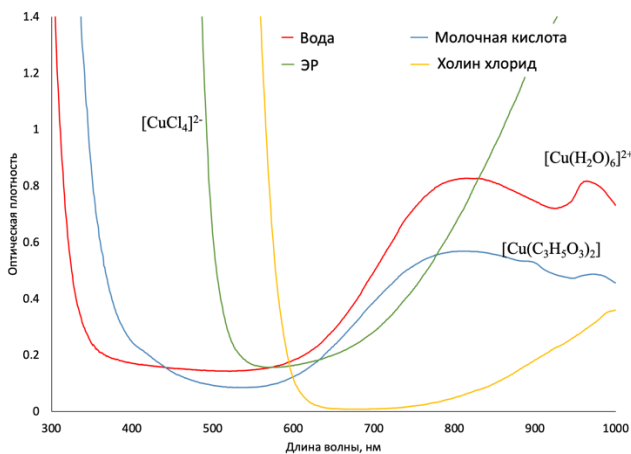
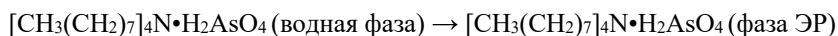
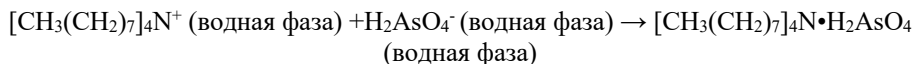
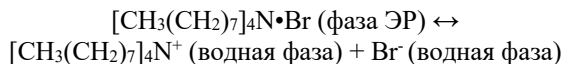


Рисунок 18 – Спектр поглощения Cu^{2+} в водном растворе, водном растворе молочной кислоты, водном насыщенном растворе хлорида холина и в эвтектическом растворителе (хлорид холина, молочная кислота, вода)

Достигнутые ПО (1-5 мг/кг) (Таблица 6) металлов (Cu, Cd, Co, Cr, Fe, Pb и Zn) в пищевых продуктах меньше ПДК (10 мкг/кг). Для подтверждения правильности выполнялся анализ реальных проб и проб с добавками аналитов. Для этого было использовано лиофилизированное мясо, в которое вводили добавки аналитов. В пробах были обнаружены такие металлы, как Zn и Fe. Содержание остальных аналитов было ниже ПО. Установленное относительное смещение не превышает 10 %. Таким образом было показано, что ЭР содержащие многоосновные карбоновые кислоты позволяют селективно извлекать ионы металлов из органических жидкостей и твердофазных проб. Разработанные способы позволили устранить необходимость выполнения микроволнового разложения таких проб.

Другой механизм реакционной ЖМЭ возможен за счет образования **ионных ассоциатов с компонентами квазигидрофобных и гидрофобных ЭР**. В данном случае в качестве прекурсора ЭР можно использовать четвертичные аммониевые основания, которые могут образовывать ионные ассоциаты с аналитами в анионных формах. Для демонстрации данной возможности разработали процедуру извлечения мышьяка (V) из водных проб в гидрофобные ЭР на основе тетраоктиламмония бромид и жирных кислот (гептановая, октановая, нонановая, декановая). Такие ЭР устойчивы в кислой среде, а в щелочной среде возможна ионизация кислот и их растворение в форме солей. Известно, что в водной фазе соединения мышьяка (V) существуют в различных формах в зависимости от pH раствора (H_3AsO_4 , H_2AsO_4^- , HAsO_4^{2-} и AsO_4^{3-}). Как видно из полученных данных (Рисунок 19), наибольшая степень извлечения наблюдается

для незаряженной H_3AsO_4 и однозаряженной $H_2AsO_4^-$ форм. Массоперенос нейтральной формы происходит за счет возможных гидрофобных взаимодействий и образования водородных связей между протоном жирной кислоты и кислородом мышьяковой кислоты. Массоперенос однозарядной формы ($H_2AsO_4^-$) возможен за счет образования ионного ассоциата между отрицательным дигидроарсенат-ионом и положительным катионом тетраоктиламмония. В этом случае механизм ЖМЭ можно представить следующими образом:



Двухзарядная форма ($HAso_4^{2-}$), которая преобладает при $pH > 5$, не извлекается, т.к. в этом случае для образования нейтрального ионного ассоциата требуется взаимодействие двух молекул тетраоктиламмония с одной молекулой мышьяковой кислоты, чему препятствуют стерические затруднения. Данный способ применили для определения мышьяка в пробах зерна риса и пшеницы после их микроволновой минерализации. Для определения мышьяка в экстрактах использовали метод ААС. Коэффициент концентрирования составил 57, а степень извлечения – 95 %, ПО – 0,5 мкг/кг (Таблица 6). Правильность получаемых результатов была подтверждена методом «введено-найдено» и использованием независимой процедуры. Во всех случаях смещение не превышало 10 %.

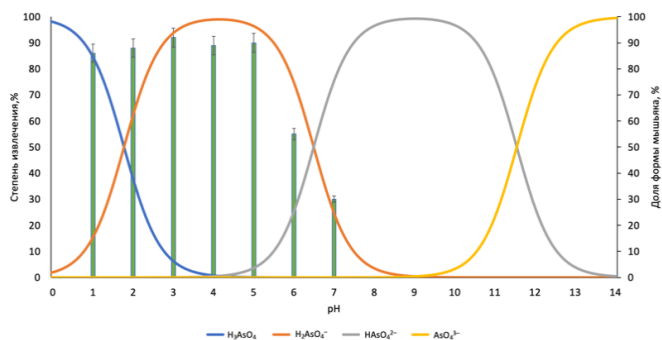


Рисунок 19 – Распределение долей форм мышьяка и влияние pH на степень извлечения мышьяка (V) в ЭР на основе бромида тетраоктиламмония/гептановой кислоты (1:2)

Таблица 6 – Аналитические характеристики разработанных способов количественного анализа реальных объектов, включающих реакцию микроэкстракцию аналитов

Объект анализа	Аналиты	Компоненты ЭР	Тип ЭР	Метод анализа	ПО	Линейный диапазон	ОСКО (n=6), %
Растительное масло	Co, Cu, Fe, Pb, Zn	Холин хлорид /карбоновые кислоты (комплексобразование)	Гидрофильный	АЭС-ИСП	0,02-17 мг/кг	0,1(10) – 100 (1500) мг/кг	5
Пищевой продукт (мясо)	Cu, Cd, Co, Cr, Fe, Pb, Zn	Холин хлорид /карбоновые кислоты (комплексобразование)	Гидрофильный	АЭС-ИСП	0,1-0,2 мг/кг	0,3(0,6) – 150 мг/кг	7
Пищевой продукт (мука)	Мышьяк общий	Тетраоктиламмоний бромид /Гептановая кислота (образование ионного ассоциата)	Гидрофобный	ААС	0,5 мг/кг	1,5-150 мг/кг	7

Глава 7. Автоматизация ЖМЭ на принципах проточных методов с применением ЭР

В настоящее время особое внимание уделяют разработке комбинированных методов, основанных на сочетании возможностей проточных методов и физико-химических методов анализа. В этом случае проточные методы применяются для автоматизации и миниатюризации процедур пробоподготовки. В литературе представлены автоматизированные способы ЖМЭ с применением классических органических растворителей. Основным ограничением применения ЭР в проточном анализе является их высокая вязкость, что затрудняет их перекачивание и диспергирование в фазе пробы. Для автоматизации ЖМЭ с применением ЭР разработана универсальная гидравлическая схема (Рисунок 20). Для диспергирования ЭР в фазе пробы применяли шприцевой насос, снабженный вкладышем магнитной мешалки. Аликвоты пробы, ЭР и реагентов отбирали автоматически через многоходовой кран-переключатель с помощью шприцевого насоса. Разработанная гидравлическая схема нашла применение для автоматизации реакционной ЖМЭ. При этом реализованы автоматизированные способы ЖМЭ, основанные на комплексобразовании аналитов с

компонентами ЭР. Способ ЖМЭ, основанный на комплексообразовании, нашел применение для определения свинца в растительных маслах методом ААС с применением *гидрофильных ЭР*.

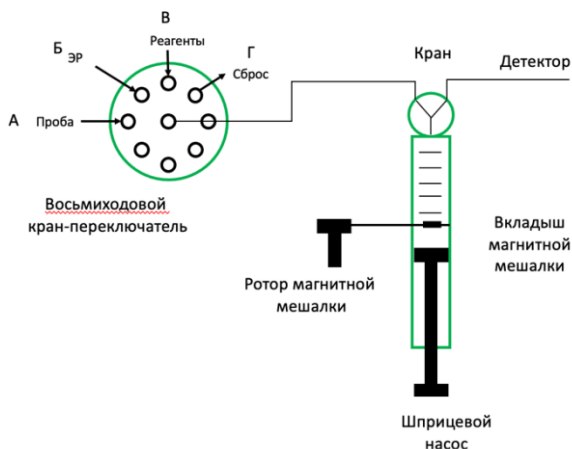


Рисунок 20 – Гидравлическая схема для автоматизации ЖМЭ: А – канал подачи пробы, Б, В, Г – каналы подачи реагентов, ЭР и сброса

влекают аналит (Рисунок 21), при этом наименьшая вязкость наблюдается при использовании молочной кислоты в качестве прекурсора ЭР (Рисунок 2). Для выполнения ЖМЭ пробу масла (4 мл) и ЭР (0,2 мл) отбирали в шприцевой насос и перемешивали фазы с помощью вкладыша магнитной мешалки (5 мин). После разделения фаз, фазу ЭР разбавляли водой для снижения фонового сигнала и анализировали методом ААС. Разработанный автоматизированный способ позволил определять свинец в сложной матрице растительного масла без использования микроволновой минерализации пробы и применения концентрированных минеральных кислот. ПО составил 0,3 мкг/л, коэффициент концентрирования составил 10 (Таблица 7). Значение степени извлечения составило 91 %. Правильность получаемых результатов подтвердили путем анализа проб с использованием независимой процедуры. Возможности автоматизированного способа ЖМЭ, основанного на образовании ионных ассоциатов, показаны при СФ определении хрома (VI) в напитках с *использованием гидрофильного ЭР*.

В работе для исследований выбрали ЭР на основе холина хлорида, воды и карбоновых кислот (лимонная, молочная, малоновая, винная и яблочная кислоты). Показано, что введение воды (30 %) в ЭР обеспечивает возможность снижения их вязкости и применения в проточном анализе. Установили, что все ЭР вне зависимости от типа кислоты эффективно из-

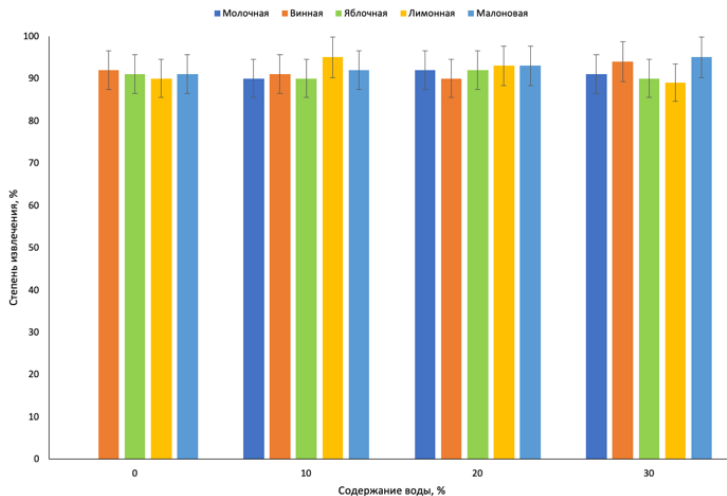


Рисунок 21 – Влияние содержания воды на степень извлечения свинца из растительного масла (n=3, С аналита 10 мг/л)

В данном случае в качестве экстракционной системы использовали ЭР на основе тетрабутиламмония бромид, муравьиной кислоты, октанола с добавкой 1,5-дифенилкарбазида. В данном случае водорастворимые компоненты ЭР выступали как диспергатор, бромид-ионы – в качестве противоионов для образования ионного ассоциата для его последующего извлечения, а муравьиная кислота – для создания требуемой кислотности среды. Таким образом в данном случае ЭР играл несколько ролей что позволило разработать эффективную процедуру спектрофотометрического определения хрома в пищевых продуктах.

Для подтверждения эффективности процесса извлечения аналита в присутствии диспергатора – ЭР проводили два независимых эксперимента. В шприцевом насосе смешивали раствор аналита и додцилсульфат натрия и экстрагент – 1-октанол, содержащий 1,5-дифенилкарбазид и муравьиную кислоту. Во втором случае подавали ЭР. Установлено, что ЭР обеспечивает более быстрый массоперенос. В этом случае 60 с было достаточно для достижения равновесия по сравнению со 180 с без использования диспергатора (Рисунок 22). Также оптическая плотность экстракта была выше в случае использования диспергатора за счет отсутствия ПАВ, который, наоборот, увеличивал растворимость аналитической формы в водной пробе. Разработанный автоматизированный способ позволил определять хром в сложной матрице пищевых продуктов без использования микроволновой минерализации пробы и применения концентрированных минеральных кислот. ПО составил 0,2 мкг/л, коэффициент

концентрирования составил 36. Значение степени извлечения составило 95% (Таблица 7). Правильность получаемых результатов была подтверждена путем анализа проб с использованием независимых процедур.

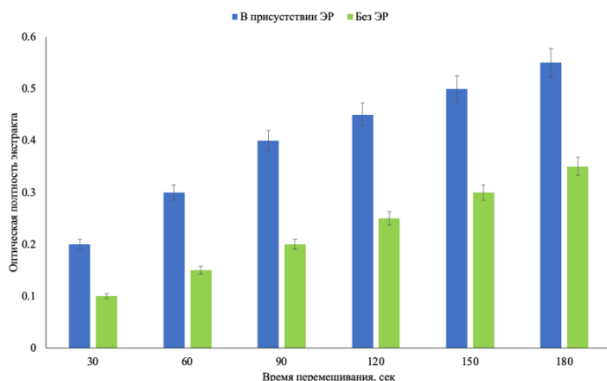


Рисунок 22 – Влияние введение ЭР на поглощение фазы экстрагента при определении хрома (n=3, С аналита 40 мкг/л)

Таблица 7 – Аналитические характеристики автоматизированных способов количественного анализа реальных объектов, включающих реакцию ЖМЭ с применением ЭР

Объект анализа	Аналиты	Компоненты ЭР	Тип ЭР	Метод анализа	ПО	Линейный диапазон	ОСКО (n=6), %
Растительное масло	Pb	Холин хлорид /молочная кислота (комплексообразование)	Гидрофильный	ААС	0,3 мкг/л	1,0-20 мкг/л	6
Пищевой продукт (соки, вода)	Cr (VI)	Тетрабутиламмоний бромид /уксусная кислота (образование ионного ассоциата)	Гидрофильный	СФ	0,2 мкг/л	0,6-40 мкг/л	5

Глава 8. Общие рекомендации по выбору прекурсоров для приготовления ЭР

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 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 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 природного терпеноида в качестве прекурсора ЭР.

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, т.к. 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 реэкстракция 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 водной 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.

Публикации в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях

1. Shishov A. Atypical deep eutectic solvents: New opportunities for chemical analysis / Shishov A., Kamal El-Deen A., Godunov P., Bulatov A. // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2024. Vol. 176. P. 117752.

2. Ninayan R. Deep eutectic solvents vs. Aqueous acids in metal extraction from animal tissues / Ninayan R., Markova U., Nizov E., Melesova M., Novikov A.S., Shishov A. // *Microchemical Journal*. – 2024. – V. 200. – P. 110252.

3. Шишов А.Ю. Автоматизированное микроэкстракционное выделение свинца из растительных масел для определения методом атомно-абсорбционной спектроскопии / Шишов А.Ю., Булатов А.В. // *Журнал аналитической химии*. - 2024. - Т. 79. - №2. - С. 173-180.

4. 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 / Shishov A., Timofeeva I., Gerasimov A., Israelyan D., Bulatov A. // *Talanta*. – 2024. – V. 266. – P. 125078.

5. Ninayan R. Water-induced changes in choline chloride-carboxylic acid deep eutectic solvents properties / Ninayan R., Levshakova A.S., Khairullina E.M., Vezo O.S., Tumkin I.I., Ostendorf A., Logunov L.S., Manshina A.A., Shishov A.Y. // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2023. – V. 679. – P. 132543.

6. Shishov A. Automated reversed-phase liquid-liquid microextraction based on deep eutectic solvent for the determination of copper as vegetable oil oxidation catalyst / Shishov A., Gurev I., Bulatov A. // *Journal of Food Composition and Analysis*. – 2023. – V. 119. – P. 105247.

7. Shishov A. Stir membrane liquid-phase microextraction based on milk fats hydrolysis and deep eutectic solvent formation: Determination of bisphenols / Shishov A., Terno P., Besedovsky M., Bulatov A. // *Food Chemistry*. – 2023. – V. 403. – P. 134408.
8. Shishov A. Deep eutectic solvent-based extraction of metals from oil samples for elemental analysis by ICP-OES / Shishov A., Savinov S., Volodina N., Gurev I., Bulatov A. // *Microchemical Journal*. – 2022. – V. 179. – P. 107456.
9. 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 / Shishov A., Volodina N., Semenova E., Navolotskaya D., Ermakov S., Bulatov A. // *Food Chemistry*. – 2022. – V. 373. – P. 131456.
10. Shishov A. Behavior of quaternary ammonium salts and terpenoids-based deep eutectic solvents in aqueous phase / Shishov A., Dubrovsky I., Kirichenko S., Bulatov A. // *Journal of Molecular Liquids*. – 2022. – V. 347. – P. 117987.
11. Shishov A. A rotating disk sorptive extraction based on hydrophilic deep eutectic solvent formation / Shishov A., Volodina N., Gagarionova S., Shilovskikh V., Bulatov A. // *Analytica Chimica Acta*. – 2021. – V. 1141, pp. 163-172.
12. Shishov A. Microextraction of sulfonamides from chicken meat samples in three-component deep eutectic solvent / Shishov A., Gorbunov A., Baranovskii E., Bulatov A. // *Microchemical Journal*. – 2020. – V. 158. – P. 105274.
13. Shishov A. Deep eutectic solvents are not only effective extractants / Shishov A., Pochivalov A., Nugbienyo L., Andruch V., Bulatov A. // *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. – 2020. – V. 129. – P. 115956.
14. Shishov A. An effervescence-assisted dispersive liquid-liquid microextraction based on deep eutectic solvent decomposition: Determination of ketoprofen and diclofenac in liver / Shishov A., Nechaeva D., Bulatov A. // *Microchemical Journal*. – 2020. – V. 156. – P. 104837.
15. Shishov A. Deep eutectic mixture membrane-based microextraction: HPLC-FLD determination of phenols in smoked food samples / Shishov A., Gagarionova S., Bulatov A. // *Food Chemistry*. – 2020. – V. 314. – P. 126097.
16. Shishov A. Decomposition of deep eutectic solvents based on choline chloride and phenol in aqueous phase / Shishov A., Gorbunov A., Moskvina L., Bulatov A. // *Journal of Molecular Liquids*. – 2020. – V. 301. – P. 112380.
17. Shishov A. In-syringe dispersive liquid-liquid microextraction using deep eutectic solvent as disperser: Determination of chromium (VI) in beverages / Shishov A., Terno P., Moskvina L., Bulatov A. // *Talanta*. – 2020. – V. 206. – P. 120209.

18. Shishov A. *In situ* decomposition of deep eutectic solvent as a novel approach in liquid-liquid microextraction / Shishov A., Chromá R., Vakh C., Kuchár J., Simon A., Andruch V., Bulatov A. // *Analytica Chimica Acta*. – 2019. – V. 1065, pp. 49-55.

19. Shishov A. A new approach for microextraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs from human urine samples based on *in-situ* deep eutectic mixture formation / Shishov A., Chislov M.V., Nechaeva D.V., Moskvín L.N., Bulatov A.V. // *Journal of Molecular Liquids*. – 2018. – V. 272, pp. 738-745.

20. Shishov A. Deep eutectic solvents as a new kind of dispersive solvent for dispersive liquid-liquid microextraction / Shishov A., Volodina N., Nechaeva D., Gagarinova S., Bulatov A. // *RSC Advances*. – 2018. – V. 8 (67), pp. 38146-38149.

21. Shishov A. Application of deep eutectic solvents in analytical chemistry. A review / Shishov A., Bulatov A., Locatelli M., Carradori S., Andruch V. // *Microchemical Journal*. – 2017. – V. 135, pp. 33-38.

Патент

Патент РФ No 2774814. Способ подготовки проб цельного и сухого молока для определения в них химических загрязнителей: No 2021120316: заявл. 09.07.2021; опублик. 23.06.2022 / Шакирова Ф.М., Шишов А.Ю., Булатов А.В.; заявитель, патентообладатель Санкт-Петербургский государственный университет. – 12 с.

Автор выражает глубокую благодарность и признательность научному консультанту д.х.н., профессору РАН А.В. Булатову за помощь при подготовке диссертационной работы профессору, д.х.н. Л.Н. Москвину, к.х.н., профессору И.И. Тимофеевой, к.х.н. К.С. Вах, Dr. V. Andruch, к.х.н., доценту Е.А. Бессоновой, к.х.н., ассистенту А.С. Почивалову, к.х.н. К.Д. Черкашиной за помощь при выполнении работы, ресурсным центрам «Методы анализа состава вещества», «Термогравиметрические и калориметрические методы исследования», «Магнитно-резонансные методы исследования», «Центра диагностики функциональных материалов для медицины, фармакологии и наноэлектроники», «Инновационные технологии композитных наноматериалов» Научного парка СПбГУ.