

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА



На правах рукописи

ГОНЧАРОВА ЕЛИЗАВЕТА НИКОЛАЕВНА

**КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ И ВЭЖХ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИДРОФИЛЬНЫХ
ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ СОРБЕНТА
HYPERCARB**

02.00.02 — Аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва — 2019

Работа выполнена на кафедре аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова

Научные руководители **Цизин Григорий Ильич**
доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник
Статкус Михаил Александрович
кандидат химических наук, старший научный сотрудник

Официальные оппоненты **Родинков Олег Васильевич**
доктор химических наук, профессор, профессор кафедры аналитической химии Института химии Санкт-Петербургского государственного университета

Нестеренко Павел Николаевич
доктор химических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории адсорбции и газовой хроматографии кафедры физической химии химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова

Браун Аркадий Владимирович
кандидат химических наук, старший научный сотрудник 31 НИО ФГБУ «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации

Защита состоится 11.12.2019 в 15 00 на заседании диссертационного совета МГУ.02.05 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, МГУ имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, аудитория 446.

E-mail: dissovet02.00.02@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп. 27) и на сайте ИАС «ИСТИНА»: <https://istina.msu.ru/dissertations/245905729/>

Автореферат разослан 5 ноября 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук

Ананьева И.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Фосфорорганические соединения как правило токсичны, либо являются продуктами разложения высокотоксичных веществ, необходима разработка простых, надежных и высокочувствительных методов их определения в объектах окружающей среды, пищевых продуктах и других объектах. Так, например, алкилфосфоновые кислоты (АРА) и О-алкилалкилфосфоновые кислоты (AlkМРА) являются маркерами применения, хранения, изготовления и транспортировки химического оружия, а глифосат (N-(фосфометил)-глицин, G1) и глюфосинат (аммоний DL-гомоаланин-4-ил-(метил)-фосфинат, G2) – неселективными гербицидами, которые используются для борьбы с сорняками. В разных странах установлены различные нормативы по предельно допустимым содержаниям (ПДК) глифосата в объектах окружающей среды и пищевых продуктах, диапазон составляет от 0,05 до 500 мг/кг. ПДК глюфосината в водах составляет 0,1 мг/дм³, а для пищевых продуктов эти значения установлены в диапазоне от 0,02 до 5 мг/кг в зависимости от вида продукции. Для алкилалкилфосфоновых и алкилфосфоновых кислот нет установленных ПДК. Однако увеличение чувствительности разрабатываемых методов их определения обеспечивает возможность получения информации о событиях большей давности, касающихся применения, хранения, изготовления и транспортировки химического оружия.

Перечисленные аналиты обычно определяют методами газовой и жидкостной хроматографии, причем последнюю использовали в обращенно-фазовом, ионном и HPLC вариантах. В последнее время предложены многочисленные способы определения большинства указанных аналитов с применением газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) с электронной и химической ионизацией, их достоинством является высокая чувствительность и возможность идентификации аналитов по библиотекам масс-спектров. Однако из-за нелетучести этих аналитов перед ГХ анализом необходимо провести их дериватизацию, а при анализе водных образцов необходима замена растворителя на органический. Эти шаги отнимают много времени и могут быть источником ошибок при количественном определении, например за счет неколичественной дериватизации аналитов в присутствии сопутствующих веществ.

Альтернативным методом определения АРА, AlkМРА и перечисленных выше пестицидов является высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Метод, как правило, не требует дериватизации аналитов и замены воды на органический растворитель, тем самым сводя к минимуму вероятность потери определяемых веществ перед анализом и позволяет проводить анализ без длительной пробоподготовки. Из-за низкого поглощения аналитов в УФ области и отсутствия способности к флуоресценции, только масс-спектрометрия (МС) позволяет надежно детектировать эти аналиты, одновременно проводя идентификацию по молекулярной массе. Детектирование по светорассеиванию, кондуктометрическое, не прямое УФ и пламенно-фотометрическое детектирование также применяют, но эти методы не позволяют надежно идентифицировать аналиты, поэтому подходят только для быстрого скрининга.

АРА и AlkМРА в водной среде являются умеренно сильными кислотами ($pK_a=2,0-2,5$), что позволяет определять их методом ионной хроматографии. Ионнохроматографическое определение предполагает проведение весьма трудоемкой процедуры пробоподготовки для уменьшения влияния сопутствующих ионов.

Привлекательно использование обращенно-фазовой хроматографии, однако небольшие высокополярные молекулы, такие как АРА, без дериватизации слабо удерживаются в этих условиях. В связи с этим актуален поиск новых неполярных неподвижных фаз и подбор условий разделения аналитов, в первую очередь состава подвижных фаз, для анализа смесей указанных гидрофильных фосфорорганических соединений. В качестве неподвижной фазы в настоящей работе предложено использовать пористый графитированный углеродный сорбент Hypercarb.

Цель работы состояла в разработке способов разделения и концентрирования гидрофильных фосфорорганических соединений (алкилфосфоновых кислот, О-алкилметилфосфоновых кислот и некоторых пестицидов) на пористом графитированном углеродном сорбенте Hypercarb, а также способов высокочувствительного хромато-масс-спектрометрического определения этих аналитов в различных объектах.

Достижение поставленной цели предусматривало решение следующих задач:

1. Разработать градиентный режим элюирования гидрофильных фосфорорганических соединений растворами муравьиной кислоты при

использовании колонок с Hypercarb, обеспечивающий увеличение времен удерживания аналитов, улучшение разрешения пиков на хроматограммах, а также формы этих пиков.

2. С использованием предложенного режима элюирования разработать способы ВЭЖХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС определения выбранных аналитов в водных растворах, оценить метрологические характеристики определения.

3. Выбрать условия сорбционного концентрирования аналитов с помощью сорбента Hypercarb, включающего сорбцию и десорбцию.

4. Оценить метрологические характеристики комбинированного сорбционно-ВЭЖХ-МС определения аналитов.

5. Проверить правильность определения аналитов в различных объектах в выбранных условиях ВЭЖХ-МС и сорбционно- ВЭЖХ-МС методами.

Научная новизна. Предложен и запатентован способ ВЭЖХ разделения/определения гидрофильных фосфорорганических веществ, включающий градиентное элюирование аналитов растворами муравьиной кислоты с использованием колонок с пористым графитированным углеродным сорбентом Hypercarb.

Установлены особенности удерживания метилфосфоновой (МРА), этилфосфоновой (ЕРА), н-пропилфосфоновой (n-PPA), изо-пропилфосфоновой (i-PPA), этилметилфосфоновой (EtMPA), изо-пропилметилфосфоновой (iPrMPA), изо-бутилметилфосфоновой (iBuMPA) и пинаколилметилфосфоновой (PiMPA) кислот, глифосата (G1), аминометилфосфоновой кислоты (АМРА) и глюфосината (G2) на сорбенте Hypercarb при использовании водных элюентов, содержащих муравьиную кислоту. Выбраны условия ВЭЖХ разделения/определения аналитов в водных растворах. Показана высокая селективность определения аналитов при использовании колонок с Hypercarb и масс-спектрометрическим детектировании.

Получены данные о сорбции и десорбции анализов на сорбенте Hypercarb, в том числе с использованием субкритической воды. На основе этих данных выбраны условия сорбционного концентрирования аналитов, позволяющие достичь высоких коэффициентов концентрирования.

Практическая значимость. Предложен способ увеличения времен удерживания гидрофильных фосфорорганических аналитов на сорбенте Hypercarb, включающий

градиентное элюирование (промывку колонки водой) аналитов растворами муравьиной кислоты.

Предложены способы ВЭЖХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС определения МРА, ЕРА, п-РРА, i-РРА, EtMPA, iPrMPA, iBuMPA, PiMPA, G2, G1, АМРА в водных объектах, позволяющие определять аналиты на уровне 0,05-10000 нг/мл. Разработан быстрый способ ВЭЖХ-МС/МС определения МРА, ЕРА, п-РРА, позволяющий определять аналиты в диапазоне от 0,25 до 500 нг/мл и ВЭЖХ-МС — в диапазоне от 30 до 10000 нг/мл. Разработан быстрый способ ВЭЖХ-МС/МС определения EtMPA, iPrMPA, iBuMPA, PiMPA, позволяющий определять аналиты в диапазоне от 0,1 до 500 нг/мл и ВЭЖХ-МС — в диапазоне от 8 до 10000 нг/мл. Разработан способ ВЭЖХ-МС/МС определения МРА, ЕРА, п-РРА, i-РРА, EtMPA, iPrMPA, iBuMPA, PiMPA, позволяющий разделить все аналиты (включая изомеры) и определять их в диапазоне от 0,25 до 500 нг/мл и ВЭЖХ-МС – в диапазоне от 8 до 10000 нг/мл. Разработан способ ВЭЖХ-МС/МС определения G2, G1, АМРА, позволяющий определять аналиты в диапазоне от 0,12 до 500 нг/мл и ВЭЖХ-МС – в диапазоне от 18 до 8000 нг/мл.

Предложены способы сорбционного концентрирования МРА, ЕРА, п-РРА, EtMPA, iPrMPA, iBuMPA, G2, G1, АМРА из водных объектов, позволяющие количественно извлекать аналиты из водных растворов. Коэффициенты концентрирования составили 90 для АРА и АМРА, G1, G2, и 150 для AlkMPA.

Предложен способ сорбционно-ВЭЖХ-МС определения МРА, ЕРА, п-РРА, позволяющий определять аналиты на уровне 0,10–0,22 нг/мл. Разработан способ сорбционно-ВЭЖХ-МС определения EtMPA, iPrMPA, iBuMPA с использованием субкритической воды в качестве десорбирующего агента, позволяющий определять аналиты на уровне 0,04–0,11 нг/мл. Разработан способ сорбционно-ВЭЖХ-МС определения G2, G1, АМРА в водах и подсолнечном масле, позволяющий определять аналиты на уровне 0,06–0,29 нг/мл.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Способ ВЭЖХ разделения/определения гидрофильных фосфорорганических веществ, включающий градиентное элюирование аналитов растворами муравьиной кислоты с использованием колонок с пористым графитированным углеродным сорбентом Hypercarb.

2. Условия разделения/определения АРА, AlkMPA, G2, G1, АМРА при использовании колонок с Hypercarb и элюентов – растворов муравьиной кислоты. Способы ВЭЖХ-МС и ВЭЖХ-МС-МС определения аналитов в водных объектах.

3. Условия концентрирования АРА, AlkMPA, G2, G1, АМРА на сорбенте Hypersep Hypercarb из водных растворов, включающего сорбцию и десорбцию (в том числе десорбцию субкритической водой).

4. Способы сорбционно-ВЭЖХ-МС определения МРА, ЕРА, n-PPA, EtMPA, iPrMPA, iBuMPA, G2, G1, АМРА в водных образцах и растительном масле.

Апробация работы. Результаты работы докладывались на Всероссийской конференции с международным участием «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» (2017, Краснодар, Россия), Третьем съезде аналитиков России (2017, Москва, Россия), V Всероссийском симпозиуме «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (2018, Краснодар, Россия), 21 Международной конференции «Flow Injection Analysis and Related Techniques» (2017, Санкт-Петербург, Россия), Всероссийской конференции "Теория и практика хроматографии» (2015, Самара, Россия), 17 Международном Симпозиуме «Advances in Extraction Technologies ExTech-2015» (2015, Гуанджоу, Китай), X Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика-2016» (2016, Углич, Россия).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 4 статьи в российских и иностранных журналах, 10 тезисов докладов и получен 1 патент на изобретение.

Личный вклад автора состоял в общей постановке задач, систематизации литературных данных, подготовке и проведении всех экспериментальных этапов исследования, обработке, интерпретации и оформлении полученных экспериментальных данных, подготовке материалов к публикации и представлении полученных результатов на конференциях. Все исследования, описанные в диссертации, выполнены лично автором или в сотрудничестве с коллегами.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, главы обсуждения результатов, заключения и списка цитируемой литературы, изложена на 170 страницах машинописного текста и включает 49 рисунков, 41 таблиц и список цитируемой литературы из 205 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы цель исследования и поставленные задачи, показаны научная новизна работы и ее практическая значимость.

В обзоре литературы, представленном в **первой главе**, описаны физическо-химические свойства сорбента Hypercarb, предполагаемый механизм удерживания полярных аналитов на этом сорбенте и перспективы использования пористого графитированного углерода. Рассмотрены и систематизированы способы определения гидрофильных полярных аналитов с помощью сорбента Hypercarb, а также способы концентрирования полярных аналитов с помощью сорбента Hypersep Hypercarb.

Во **второй главе** перечислены оборудование, реагенты и материалы, использованные в работе, а также описаны схемы экспериментов.

В работе использовали следующее аналитическое оборудование:

- ВЭЖХ-МС систему, состоящая из моноквадрупольного масс-спектрометра Shimadzu LCMS-2020 (Япония) с ионизацией аналитов электрораспылением (ESI), химической ионизацией при атмосферном давлении (APCI) и приставкой DUIS для одновременной ионизации в режимах ESI и APCI, и жидкостного хроматографа Shimadzu LCMS-2020 (Япония). Регистрацию хроматограмм и обработку данных проводили при помощи программного обеспечения LabSolutions LCMS (Япония).

- ВЭЖХ-МС/МС систему, состоящую из гибридного тандемного квадрупольного масс-спектрометрического детектора ABSciex Qtrap 5500 (Канада), оснащенного источником электрораспылительной ионизации; и жидкостного хроматографа Agilent Technologies (США). Регистрацию хроматограмм и обработку данных проводили при помощи программного обеспечения Analyst 1.5.1 (Канада).

- Систему для концентрирования, состоящую из жидкостного насоса Аквилон серии 2 (Россия), автоматического инжекторного блока Аквилон (Россия) и корпуса печи от газового хроматографа ЛХМ-80 (ЗАО «Хроматограф», Россия).

Аналиты детектировали в режиме регистрации отрицательных ионов после электрораспыления. Параметры регистрации ионов аналитов (величины m/z и $Q1/Q2$, потенциал декластеризации (DP), энергия соударений (CE)) представлены в табл. 1.

Отрицательный режим регистрации ионов выбирали, исходя из строения определяемых веществ.

Таблица 1. Параметры регистрации ионов АРА, AlkMPA, G1, G2, АМРА масс-спектрометром.

Аналит	Q1/Q3*	DP*, В	CE*, В	m/z
МРА	95/63, 95/79	-90	-85	95
ЕРА	109/63, 109/79	-85	-88	109
n-PPA	123/63, 123/79	-100	-94	123
i-PPA	123/63, 123/79	-100	-94	123
EtMPA	123/95, 123/79, 123/63	-30	-109	123
iPrMPA	137/95, 137/79, 137/63	-50	-134	137
iBuMPA	151/63, 151/79, 151/95	-70	-121	151
PiMPA	-	-	-	179
АМРА	110/79, 110/63	-90	-60	110
G1	168/79, 168/63	-110	-80	168
G2	180/63, 180/95	-90	-91	180

* — только для трехквadrupольного масс-спектрометра.

Использовали колонки для разделения/концентрирования аналитов:

Hypercarb (30 × 2,1 мм и 100 × 2,1 мм) (Thermo Scientific, США), колонка для концентрирования (30 × 2,1 мм) с сорбентом Hypersep Hypercarb (Thermo Scientific, США). Характеристики сорбентов, используемых в работе приведены в табл. 2.

Таблица 2. Характеристики пористых графитированных углеродных сорбентов.

Название	Произ- водитель	Ср. размер частиц, мкм	Ср. D пор, нм	V пор, м ³ /г	Пористость, %	Форма частиц	С углерода, %	S пов., м ² /г	Прим.
Hypercarb	Thermo Scientific **	3; 5; 7*	25	0,7	75	сфер.	100	120	ВЭЖХ
Hypercarb Hypersep		30				н/д			ТФЭ

** - ранее сорбенты Hypercarb выпускались компанией Shandon Scientific.

Согласно опубликованным данным, Hypercarb представляет собой проводящий кристаллический материал из переплетенных графитовых лент (рис. 1). Графитированные листы состоят из sp²-гибридизованных атомов углерода, находящихся в гексагональном расположении. В листах атомы углерода связаны ковалентной связью. Листы удерживаются вместе с помощью Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий. Такая структура придает сорбенту механическую стабильность.

Известно, что Hypercarb хорошо извлекает полярные соединения из водных растворов. Универсальность применения этого сорбента для разделения и концентрирования веществ различной полярности обусловлена проявлением как дисперсионных взаимодействий, так и эффектами полярного удерживания ионизированных и полярных аналитов, а плоская поверхность графитовых лент обеспечивает сорбентам такого типа дополнительную селективность при разделении структурно родственных соединений (например, изомеров). В связи с этим при ВЭЖХ разделении гидрофобных веществ на колонках с таким сорбентом часто используют подвижные фазы различной полярности, а при разделении ионизированных и полярных аналитов – водные растворы диссоциирующих соединений, например, карбоновых кислот.

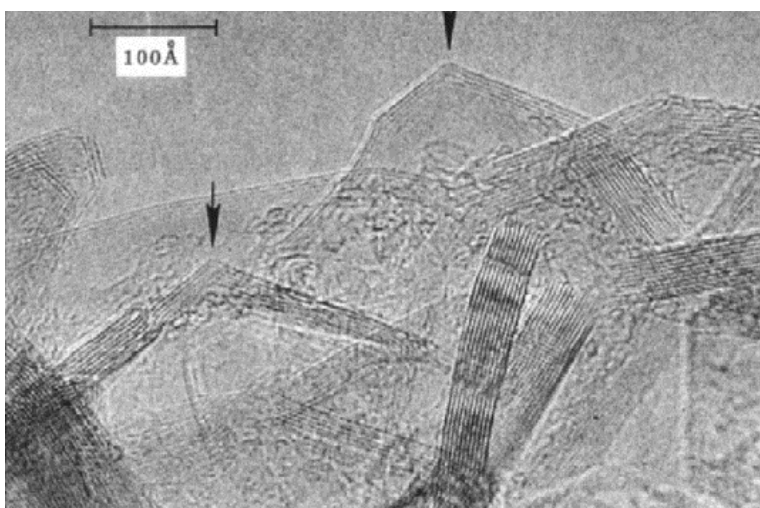


Рис. 1. Электронные микрофотографии высокого разрешения пористого графитированного углерода (Hypercarb) [1].

Третья глава диссертации посвящена разработке способов ВЭЖХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС определения алкилфосфоновых и/или О-алкилметилфосфоновых кислот, фосфорсодержащих пестицидов – глифосата и глюфосината в водных объектах с использованием пористого графитированного углеродного сорбента Hypercarb.

Разработка способа ВЭЖХ разделения гидрофильных фосфорорганических веществ с использованием сорбента Hypercarb. Алкилфосфоновые кислоты, глифосат и глюфосинат – весьма гидрофильные вещества, поэтому их разделение в режиме обращенно-фазовой хроматографии затруднительно вследствие их малого удерживания. Для увеличения удерживания гидрофильных аналитов в литературе предложено использовать углеродный сорбент Hypercarb. В качестве элюента для

разделения алкилфосфоновых и О-алкилметилфосфоновых кислот использовали водные растворы муравьиной и других карбоновых кислот, а для указанных пестицидов – водный раствор аммиака с добавкой формиата аммония. Однако, несмотря на уникальные свойства Hypercarb, при уравнивании хроматографической колонки элюентом коэффициенты удерживания аналитов были невелики, не все аналиты удавалось разделить. Для увеличения удерживания мы предложили использовать градиентное элюирование растворами муравьиной кислоты, включающее промывку хроматографической колонки деионизированной водой перед инъектированием образца.

Так, показано, что коэффициенты емкости гидрофильных аналитов существенно увеличиваются при промывке колонки водой вплоть до 15 мин (7,1 объемов колонки), а затем не меняются (на примере АРА, рис. 2)

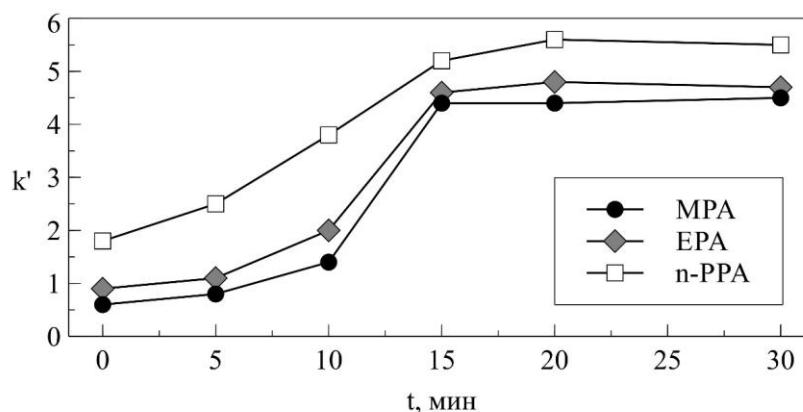


Рис. 2. Зависимость коэффициентов емкости АРА от времени предварительной промывки колонки деионизированной водой. Колонка: Hypercarb (30 × 2,1 мм); Скорость потока: 0,2 мл/мин. Температура колонки: 40 °С. Элюент: 0,5% НСООН; С_{аналитов}: 1 мкг/мл. МРА — метилфосфоновая кислота, ЕРА — этилфосфоновая кислота, n-PPA — n-пропилфосфоновая кислота.

Показано, что при использовании предложенной процедуры (ступенчатого градиента концентрации муравьиной кислоты) также улучшается разрешение пар пиков (на примере AlkМРА, табл. 3).

Выбраны условия хроматографического разделения всех указанных аналитов, включая группу изомеров: n-пропилфосфоновую, изо-пропилфосфоновую и этилметилфосфоновую кислоты, обеспечивающие оптимальное разрешения пиков. Для этого изучены зависимости времен удерживания аналитов от температуры хроматографической колонки, скорости потока, времени предварительного уравнивания хроматографической колонки деионизированной водой и от состава

подвижной фазы. В качестве примера приведены типичные хроматограммы разделения смеси алкилфосфоновых кислот (рис. 3).

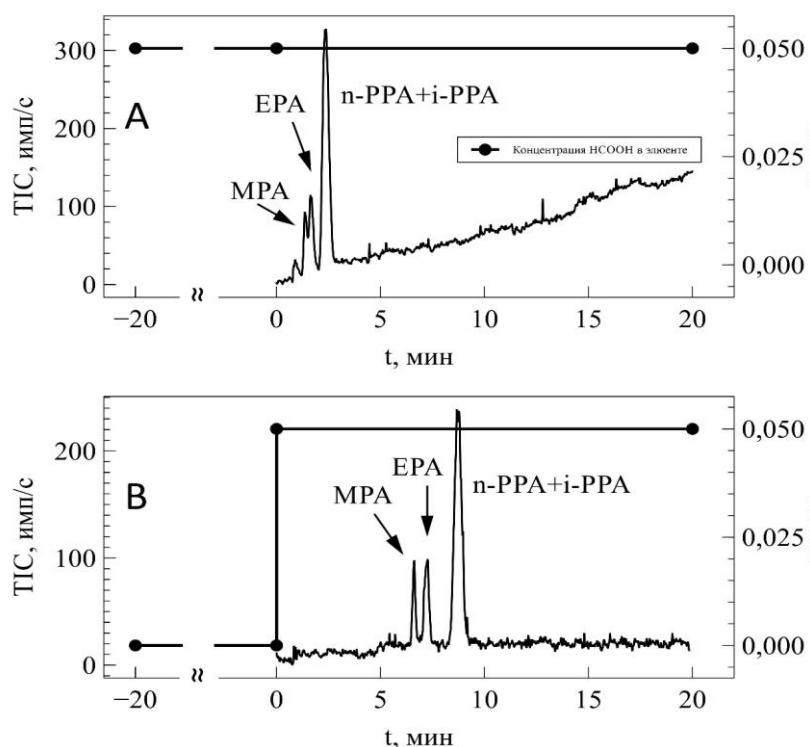


Рис. 3. Хроматограммы смеси алкилфосфоновых кислот (АРА) с концентрацией 1 мкг/мл. Колонка: Hypercarb (30 × 2,1 мм). Скорость потока: 0,2 мл/мин. Температура колонки: 40 °С. А – без промывки колонки водой (число теор. тарелок N: 190–350), В – с предварительной промывкой колонки водой (число теор. тарелок N: 1550–1970). МРА – метил-фосфоновая кислота, ЕРА – этилфосфоновая кислота, n-PPA – n-пропилфосфоновая кислота, i-PPA – изо-пропилфосфоновая кислота.

Таблица 3. Коэффициенты емкости AlkMPA и разрешение пар пиков в зависимости от времени промывки колонки водой ($n = 3$, $P = 0,95$). Колонка: Hypercarb (30 × 2,1 мм); Скорость потока: 0,2 мл/мин. Температура колонки: 40 °С. Элюент: 0,5% HCOOH; $C_{\text{аналитов}}$: 1 мкг/мл.

Аналит	$t_{\text{промывки, мин}}$				
	0	1	5	10	15
EtMPA	2,5±0,2	2,5±0,2	5,9±0,1	6,2±0,2	6,1±0,2
iPrMPA	3,1±0,3	3,2±0,3	6,5±0,1	6,7±0,1	6,7±0,1
iBuMPA	8,5±0,4	9,3±0,3	11,4±0,5	11,5±0,1	11,4±0,1
PiMPA	13,2±0,1	-	-	-	13,7±0,1
R_s					
EtMPA — iPrMPA	1,1±0,2	1,2±0,1	1,4±0,1	1,5±0,2	1,5±0,2
iPrMPA — iBuMPA	6,2±0,2	6,2±0,2	6,6±0,3	6,6±0,2	6,9±0,2

Показано, что градиентное элюирование аналитов приводит также к улучшению симметрии пиков на хроматограммах. Например, коэффициент симметрии (A_s) для МРА изменился с 0,600 до 1,033, для ЕРА – с 0,714 до 1,082 и для n-PPA – с 1,255 на 1,050.

Предложены способы экспрессного ВЭЖХ-МС определения АРА, AlkMPA, пестицидов G1, G2 и АМРА, а также одновременного определения АРА и AlkMPA. Метрологические характеристики определения аналитов представлены в табл. 4.

Показано, что разработанные способы позволяют определять аналиты на уровне 3–30 нг/мл при использовании моноквадрупольного масс-спектрометра и на уровне 0,05–0,25 нг/мл – трехквадрупольного масс-спектрометра. Показана возможность определения АРА при введении в хроматографическую колонку 5 мл пробы. Данный способ позволяет снизить пределы обнаружения, однако при этом ухудшается разрешение пиков (рис. 4). В таком варианте пределы обнаружения МРА, ЕРА и n-PPA составили от 0,27 до 0,70 нг/мл при использовании моноквадрупольного масс-спектрометра.

Таблица 4. Метрологические характеристики ВЭЖХ-МС и ВЭЖХ-МС-МС определения АРА, AlkMPA, АМРА, G1, G2 (n = 3). Колонка: Nupercarb (5 мкм); Скорость потока 0,2 мл/мин, инжестируемый объем: 10 мкл.

Аналит	Линейный диапазон, нг/мл	S _r	С мин, нг/мл
МРА*	500–10000	0,10	30
ЕРА*	500–10000	0,08	30
n-PPA*	500–10000	0,01	20
i-PPA*	100–10000	0,03	20
EtMPA*	10–10000	0,04	3
iPrMPA*	10–10000	0,01	3
iBuMPA*	100–10000	0,10	8
АМРА*	100–8000	0,07	11
G1*	100–8000	0,02	18
G2*	100–8000	0,06	10
МРА**	1–500	0,07	0,07
ЕРА**	1–500	0,06	0,25
n-PPA**	1–500	0,02	0,12
i-PPA**	1–500	0,04	0,15
EtMPA**	1–500	0,04	0,11
iPrMPA**	1–500	0,01	0,05
iBuMPA**	1–500	0,08	0,20
АМРА**	1–500	0,09	0,12
G1**	1–500	0,05	0,06
G2**	1–500	0,05	0,09
МРА***	10–1000	0,10	0,70
ЕРА***	10–1000	0,02	0,27
n-PPA***	10–1000	0,01	0,33

* - ВЭЖХ-МС определение.

** - ВЭЖХ-МС/МС определение.

*** - ВЭЖХ-МС определение при введении большого объема пробы (5 мл) в хроматографическую колонку.

Разработанные способы определения апробированы при анализе объектов: алкилфосфоновых и/или О-алкилметилфосфоновых кислот в речной и талой воде, глюфосината, глифосата и его метаболита – аминметилфосфоновой кислоты в

речной воде и в растительном масле («Слобода»). Пробоподготовку растительного масла перед концентрированием и/или определением проводили согласно методике, описанной в МУК 4.1.2048–4.1.2061-06, в качестве экстрагента использовали деионизованную воду.

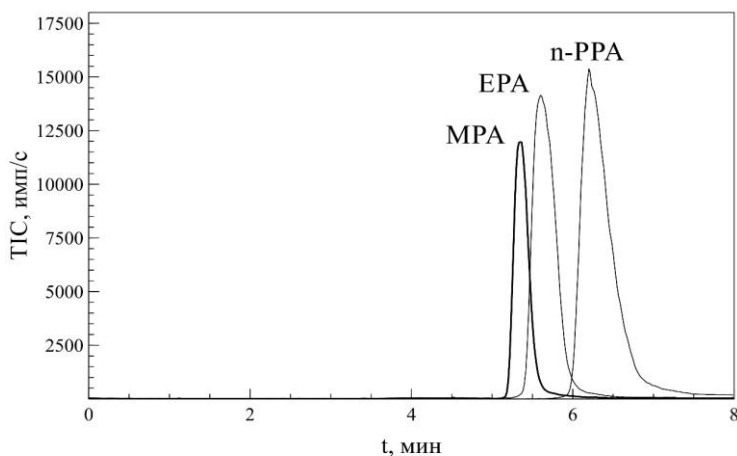


Рис. 4. Хроматограмма алкилфосфоновых кислот. Колонка: Нуперcarb (30 × 2,1 мм). Скорость потока: 0,2 мл/мин. Температура колонки: 30°C. $C_{\text{АРА}} = 0,5$ мкг/мл, Вводимый объем пробы: 5 мл. Элюирование 0,1% HCOOH , $V=1,6$ мл. Число теор. тарелок $N: 2100\text{--}4500$. МРА – метилфосфоновая кислота, ЕРА – этилфосфоновая кислота, n-PPA – n-пропилфосфоновая кислота.

Четвертая глава посвящена разработке способов сорбционного концентрирования указанных аналитов на сорбенте Нуперcarb и комбинированных сорбционно-ВЭЖХ-МС способов определения этих аналитов в водах и растительном масле, основанных на применении сорбента Нуперcarb и предложенного нами способа градиентного элюирования аналитов.

Так, высокочувствительное определение аналитов, в том числе гидрофильных фосфорорганических веществ в сложных по составу объектах не может ограничиваться только выбором условий разделения этих веществ. В общем случае требуется разработка процедур, обеспечивающих сброс матричных компонентов образцов, а также повышение чувствительности определения аналитов. Как правило, этих целей не удастся добиться с помощью одной хроматографической колонки, задачи анализа объектов решают в двухколоночной системе, на первой небольшой колонке аналиты концентрируют, не обращая внимание на их разделение. Соответственно, и требования к сорбенту для концентрирования иные, чем для сорбента для разделения, часто используют сорбент с более крупными частицами, чем хроматографический. Однако появляются дополнительные требования к макросоставу концентрата, его компоненты не должны мешать последующему разделению аналитов на хроматографической колонке.

Для повышения чувствительности определения фосфорсодержащих пестицидов и продуктов их деградации (глифосата, аминотетилфосфоновой кислоты

и глюфосината), алкилфосфоновых и О-алкилметилфосфоновых кислот были разработаны способы их концентрирования на сорбенте Hypersep Hypercarb. Исследовали сорбцию и десорбцию аналитов.

Для изучения сорбции аналитов регистрировали кривые проскока каждого аналита (пример на рис. 5), а также рассчитывали максимальные объемы пропускаемого раствора в зависимости от скорости его пропуска (табл. 5).

Из выбранного нами ряда алкилфосфоновых кислот наиболее слабоудерживаемым аналитом является метилфосфоновая кислота, поэтому максимальный объем до проскока при совместном концентрировании метил-, этил-, н-пропил- фосфоновых кислот составил 27 мл при скорости потока 0,5 мл/мин.

В ряду выбранных нами О-алкилметилфосфоновых кислот наименее удерживаемым аналитом является этил- и изо-пропил- метилфосфоновые кислоты. Максимальный объем до проскока при суммарном концентрировании этил-, изо-пропил-, изо-бутил- метилфосфоновых кислот составил 85 мл, при скорости потока 0,5 мл/мин. В таком варианте стадия сорбции занимает 170 мин, поэтому было принято решение проводить сорбцию при скорости потока 0,75 мл/мин. В этих условиях максимальный объем до проскока составляет 75 мл и стадия сорбции занимает 100 мин.

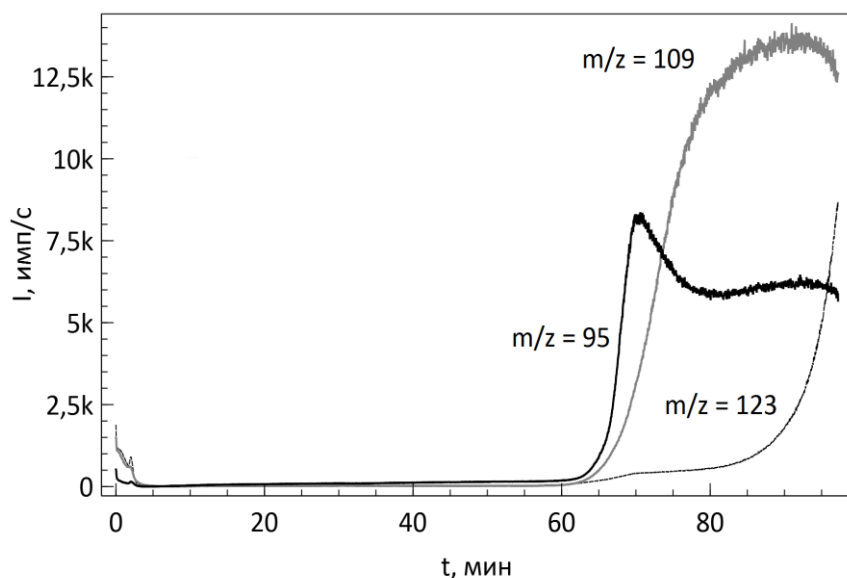


Рис. 5. Кривые проскока алкилфосфоновых кислот. Колонка для концентрирования (30 × 2,1 мм) с сорбентом Hypersep Hypercarb для твердофазной экстракции (30 мкм). Концентрации аналитов: 0,1 мкг/мл. Скорость потока: 0,5 мл/мин. Температура колонки: 25 °С. Аналиты: 95 — метил-, 109 — этил-, 123 — изо-пропил- фосфоновые кислоты.

В ряду выбранных нами пестицидов и их метаболитов наиболее слабоудерживаемым аналитом является аминметилфосфоновая кислота (метаболит глифосата), и максимальный объем до проскока составляет 28 мл при скорости

потока 0,5 мл/мин. Однако сами пестициды удерживаются значительно сильнее, поэтому можно проводить концентрирование только пестицидов, максимальный объем до проскока при этом составляет 60 мл при скорости потока 1 мл/мин.

Таблица 5. Максимальные объемы (мл) пропускаемого раствора до проскока аналитов в зависимости от скорости потока.

Колонка для концентрирования (30 × 2,1 мм) с сорбентом Hypersep Hypercarb для твердофазной экстракции (30 мкм). Концентрации АРА 0,1 мкг/мл, AlkМРА и пестицидов 0,2 мкг/мл. Температура колонки 25 °С.

Аналит	Скорость потока, мл/мин			
	0,25	0,50	0,75	1,00
МРА	23	27	26	-
ЕРА	25	27	26	-
n-PPA	33	33	34	-
EtМРА	-	85	75	60
iPrМРА	-	85	75	60
iBuМРА	-	94	83	65
АМРА	-	28	23	22
G2	-	75	60	60
G1	-	>115	>172	>110

Выбраны условия десорбции аналитов с ПГУ Hypersep Hypercarb. В качестве десорбирующих агентов использовали водные растворы карбоновых кислот и их аммонийных солей при комнатной температуре, а также при нагреве при использовании растворов солей, смеси вода — органический растворитель (ацетонитрил, метанол) при комнатной температуре и при нагреве, водные растворы аммиака при комнатной температуре и при нагреве, водные растворы аммиака с добавкой аммонийных солей карбоновых кислот при комнатной температуре и при нагреве, субкритическую воду (для получения субкритической воды применяли предложенную ранее в нашей группе установку). Показано, что для алкилфосфоновых кислот наиболее подходящим десорбирующим агентом являются водные растворы муравьиной кислоты и ее аммонийной соли. Для десорбции этой группы аналитов необходимый объем составлял 500 и 300 мкл при использовании 0,13 М раствора муравьиной кислоты и 0,13 М раствора формиата аммония соответственно. Примеры кривых десорбции приведены на рис. 6. О-алкилметилфосфоновые кислоты наиболее эффективно десорбируются субкритической водой при 200 °С. Объем десорбирующего агента, необходимый для десорбции AlkМРА, составил 500 мкл. Показано, что снижение температуры субкритической воды приводит к увеличению объема десорбирующего агента,

необходимого для количественной десорбции, что приводит к увеличению объема получаемого концентрата и увеличению пределов обнаружения сорбционно-ВЭЖХ определения.

Показано, что увеличение температуры приводит к гидролизу эфиров до метилфосфоновой кислоты. При температуре 225 °С О-алкилметилфосфоновые кислоты гидролизуются полностью.

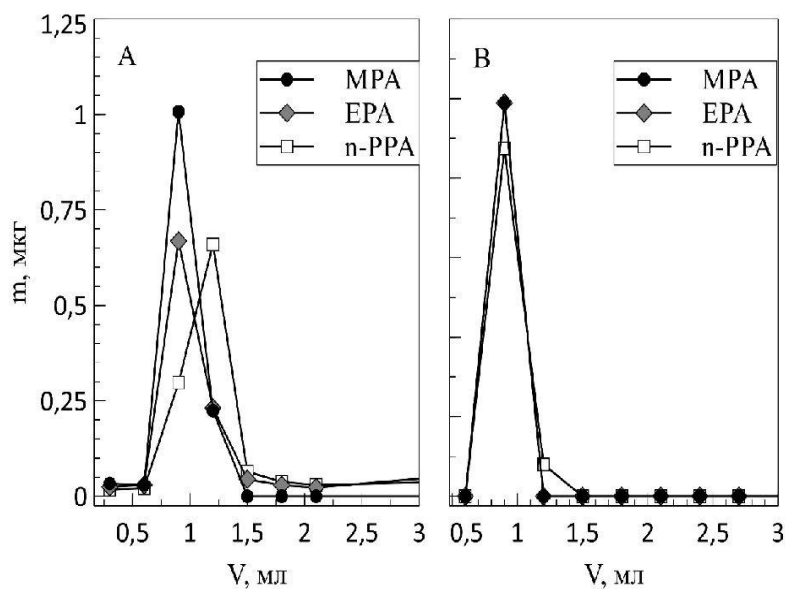


Рис. 6. Кривые десорбции алкилфосфоновых кислот. Раствор для десорбции: А — 0,13 М муравьиная кислота;

В — 0,13 М раствор формиата аммония (кривые десорбции метилфосфоновой и этилфосфоновой кислот совпадают).

Аналиты сорбировали на Hypersep Hypercarb из 5 мл раствора, $C_{\text{АРА}} = 0,5$ мкг/мл. Скорость потока: 0,5 мл/мин. МРА — метил-, ЕРА — этил-, n-PPA — изо-пропил-фосфоновые кислоты.

Выбранные в качестве аналитов пестициды и их метаболиты наиболее эффективно десорбируются 80% метанолом с 1% добавкой аммиака. Для количественной десорбции необходим объем десорбирующего агента равный 3 мл. Для снижения пределов обнаружения было предложено вырезать зону концентрата объемом 300 мкл с наибольшим содержанием аналитов.

В выбранных условиях коэффициенты концентрирования аналитов составили 90 (АРА, G1, G2 и АМРА) и 150 (AlkMPA). Показано, что макросостав получаемых концентратов не оказывает негативного влияния на МС определение аналитов.

Разработаны комбинированные сорбционно-ВЭЖХ-МС способы определения АРА, AlkMPA, G1, G2 и АМРА в водных растворах. Оценены метрологические характеристики предложенных способов (табл. 6).

Правильность определения добавок алкилфосфоновых и О-алкилметилфосфоновых кислот в речной и талой воде, а также пестицидов (глюфосината, глифосата и его метаболита — аминотилфосфоновой кислоты) подтверждена методом «введено-найдено» в речной воде и растительном масле

подтверждена методом «введено-найдено» (табл. 7). Как видно из приведенных данных, макросостав концентрата не мешает определению выбранных аналитов.

Таблица 6. Метрологические характеристики сорбционно-ВЭЖХ-МС определения АРА, AlkMPA, АМРА, G1, G2 (n = 3).

Концентрирование: Колонка: Hypersep Hypercarb (30 × 2,1 мм, 30 мкм), температура колонки: 25°C.

Определение: Колонка: Hypercarb (30 × 2,1 мм, 5 мкм), скорость потока: 0,2 мл/мин; Температура колонки: 30°C; Инжектируемый объем: 10 мкл; П.Ф. А: деионизованная вода; П.Ф. Б: раствор муравьиной кислоты в воде.

Аналит	Линейный диапазон, нг/мл	S _r	С мин., нг/мл
МРА*	5 – 100	0,15	0,20
ЕРА*	5 – 100	0,12	0,22
n-PPA*	5 – 100	0,01	0,10
EtMPA**	5 – 250	0,12	0,11
iPrMPA**	5 – 250	0,03	0,09
iBuMPA**	5 – 250	0,01	0,04
АМРА***	1 – 50	0,01	0,06
G1***	1 – 50	0,09	0,19
G2***	1 – 50	0,10	0,29

* Концентрирование: аналиты извлекали из 28 мл образца при скорости потока 0,5 мл/мин и десорбировали 0,5% раствором формиата аммония при скорости потока 0,5 мл/мин. Объем концентрата составлял 300 мкл.

Определение: градиент: 0-15 мин. Уравновешивание колонки 100% П.Ф. А, инжектирование анализируемой пробы, 15 – 25 мин, элюирование 100% П.Ф. Б.

** Концентрирование: аналиты извлекали из 75 мл образца при скорости потока 0,75 мл/мин и десорбировали субкритической водой при 200 °C и скорости потока 0,5 мл/мин. Объем концентрата составлял 500 мкл.

Определение: градиент: 0-10 мин. Уравновешивание колонки 100% П.Ф. А, инжектирование анализируемой пробы, 10 – 20 мин, элюирование 100% П.Ф. Б.

*** Концентрирование: аналиты извлекали из 28 мл при скорости потока 0,5 мл/мин и десорбировали 1% аммиаком в 80% метаноле при скорости потока 0,5 мл/мин. Объем концентрата составлял 300 мкл.

Определение: градиент: 0-10 мин. Уравновешивание колонки 100% П.Ф. А, инжектирование анализируемой пробы, 10 – 20 мин, элюирование 100% П.Ф. Б. П.Ф. Б: раствор аммиака в воде с добавлением формиата аммония.

Таблица 7. Результаты сорбционно-ВЭЖХ-МС определения АРА, AlkMPA, АМРА, G1, G2 (нг/мл) в талой и речной водах (нг/мл) и в растительном масле (нг/г) (n = 4, P = 0,95).

Концентрирование: Колонка: Hypersep Hypercarb (30 × 2,1 мм, 30 мкм), температура колонки: 25°C.

Определение: Колонка: Hypercarb (30 × 2,1 мм, 5 мкм), скорость потока: 0,2 мл/мин; Температура колонки: 30°C; Инжектируемый объем: 10 мкл; П.Ф. А: деионизованная вода; П.Ф. Б: раствор муравьиной кислоты в воде.

Аналит	Талая вода		
	Введено 0, найдено	Введено 5, найдено	Введено 10, найдено
MPA ¹	-*	-	9,9±1,4
EPA ¹	-*	-	10,0±1,2
n-PPA ¹	-*	-	10,0±0,8
EtMPA ²	-*	5,2±0,6	9,4±1,2
iPrMPA ²	-*	5,0±0,2	10,0±0,4
iBuMPA ²	-*	5,1±0,1	10,0±0,4
	Речная вода		
	Введено 0, найдено	Введено 50, найдено	
MPA ¹	-*	49±7	
EPA ¹	-*	50±5	
n-PPA ¹	-*	50±1	
EtMPA ²	-*	20±2**	
iPrMPA ²	-*	20±1**	
iBuMPA ²	-*	20±1**	
АМРА ³	-*	19±1**	
G1 ³	-*	20±1**	
G2 ³	-*	20±2**	
	Растительное масло		
	Введено 0, найдено	Введено 40, найдено	
АМРА ³	-*	40±1	
G1 ³	-*	40±3	
G2 ³	-*	40±4	

* - ниже предела обнаружения.

** - введено 20 нг/мл

¹- Концентрирование: аналиты извлекали из 28 мл образца при скорости потока 0,5 мл/мин и десорбировали 0,5% раствором формиата аммония при скорости потока 0,5 мл/мин. Объем концентрата составлял 300 мкл.

Определение: градиент: 0-15 мин. Уравновешивание колонки 100% П.Ф. А, инжектирование анализируемой пробы, 15 – 25 мин, элюирование 100% П.Ф. Б.

²- Концентрирование: аналиты извлекали из 75 мл образца при скорости потока 0,75 мл/мин и десорбировали субкритической водой при 200 °C и скорости потока 0,5 мл/мин. Объем концентрата составлял 500 мкл.

Определение: градиент: 0-10 мин. Уравновешивание колонки 100% П.Ф. А, инжектирование анализируемой пробы, 10 – 20 мин, элюирование 100% П.Ф. Б.

³- Концентрирование: аналиты извлекали из 28 мл при скорости потока 0,5 мл/мин и десорбировали 1% амиаком в 80% метаноле при скорости потока 0,5 мл/мин. Объем концентрата составлял 300 мкл.

Определение: градиент: 0-10 мин. Уравновешивание колонки 100% П.Ф. А, инжектирование анализируемой пробы, 10 – 20 мин, элюирование 100% П.Ф. Б. П.Ф. Б: раствор аммиака в воде с добавлением формиата аммония.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Общие выводы

1. Для разделения гидрофильных фосфорорганических веществ на пористом графитированном углеродном сорбенте Hypercarb предложен оригинальный ступенчатый градиентный режим элюирования, включающий промывку хроматографической колонки деионизованной водой перед инъектированием и дальнейшее разделение аналитов раствором муравьиной кислоты. Предложенный прием обеспечивает увеличение времен удерживания всех слабоудерживаемых аналитов, разделение близких по структуре и свойствам вещества, таких как изомеры изопропил-, н-пропил- и этилметилфосфоновых кислот, а также улучшение симметрии пиков на хроматограммах.
2. С использованием предложенного приема разработаны способы экспрессного ВЭЖХ-МС определения алкилфосфоновых, О-алкилметилфосфоновых кислот, глифосата, аминометилфосфоновой кислоты и глюфосината в водных растворах и природных водах. Показано, что разработанные способы позволяют определять выбранные аналиты на уровне 3–30 нг/мл при использовании моноквадрупольного масс-спектрометра и 0,05–0,25 нг/мл при использовании трехквадрупольного. Показана возможность определения алкилфосфоновых кислот при введении в хроматографическую колонку 5 мл пробы. В таком варианте пределы обнаружения МРА, ЕРА и n-PPA составили от 0,27 до 0,70 нг/мл при использовании моноквадрупольного масс-спектрометра.
3. С целью повышения чувствительности ВЭЖХ-МС определения фосфорорганических аналитов разработаны способы концентрирования этих аналитов на сорбенте Hypersep Hypercarb. Установлены максимально возможные объемы анализируемого раствора, из которых достигается количественное извлечение аналитов, мл: 27 (АРА), 27,5 (G1, G2 и АМРА), 75 (AlkMPA), а также скорости пропускания анализируемого раствора, мл/мин: 0,5 (АРА, G1, G2 и АМРА) и 0,75 (AlkMPA). Выбраны составы десорбирующих растворов, обеспечивающих количественную десорбцию аналитов в минимальный объем элюата: 0,5 % водный раствор формиата аммония (АРА), субкритическая вода при 200 °С (AlkMPA), 1 %-ный раствор аммиака в 80 % метаноле (G1, G2 и

АМРА). В выбранных условиях коэффициенты концентрирования аналитов составили 90 (АРА, G1, G2 и АМРА) и 150 (АлкМРА).

4. Разработаны способы высокочувствительного сорбционно-ВЭЖХ-МС определения фосфорорганических аналитов в природных водах и растительном масле с пределами обнаружения 0,10–0,22 (АРА), 0,04–0,11 (АлкМРА), 0,06–0,29 (G1, G2 и АМРА) нг/мл при использовании в качестве детектора моноквадрольного масс-спектрометра. Правильность определения добавок аналитов подтверждена анализом талой и речной воды, а также растительного масла.

Основные результаты работы изложены в следующих публикациях:

**Статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах,
включенных в перечень Минобрнауки РФ, а также индексируемых в
Web of Science™, Scopus®**

1. **Гончарова Е.Н.**, Статкус М.А., Цизин Г.И., Селимов Р.Н. ВЭЖХ-определение глифосата, аминометилфосфоновой кислоты и глюфосината с использованием пористого графитированного сорбента HYPERCARB. // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. 2018. Т. 59. № 6. С. 395–403. (Goncharova E.N., Statkusa M.A., Tsizin G.I., Selimov R.N. HPLC Determination of Glyphosate, Aminomethylphosphonic Acid, and Glufosinate Using a Hypercarb Porous Graphite Adsorbent. // Moscow University Chem. Bulletin. 2018. V. 73. No. 6. P. 265–271.) SCOPUS: 0,188.

2. **Гончарова Е.Н.**, Семенова И.П., Статкус М.А., Цизин Г.И. Градиентное ВЭЖХ разделение алкилфосфоновых кислот на пористом графитированном сорбенте HYPERCARB с использованием водного раствора муравьиной кислоты в качестве подвижной фазы. // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. 2017. Т. 58. № 6. С. 275–280. (Goncharova E.N., Semenova I.P., Statkus M.A., Tsysin G.I. Gradient HPLC Separation of Alkylphosphonic Acids on a Hypercarb Porous Graphitic Carbon Adsorbent with an Aqueous Formic Acid Solution as the Mobile Phase. // Moscow University Chem. Bulletin. 2017. V. 72. No. 6. P. 255–259.) SCOPUS: 0,188.

3. Statkus M.A., **Goncharova E.N.**, Gorbacheva S.Yu., Tsyisin G.I. Solvation characteristics of porous graphitic carbon Hupercarb in subcritical water chromatography. // Talanta. 2018. V. 188. P. 365–369. WOS: 4,916.

4. Борисова Д.Р., **Гончарова Е.Н.**, Статкус М.А., Цизин Г.И. Проточное сорбционно-жидкостно-хроматографическое определение моноэфиров фталевой кислоты, включающее десорбцию субкритической водой. // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. 2015. Т. 56. № 5. С. 42–47. (Borisova D.R., Goncharova E.N., Statkus M.A., Tsisin G.I. On-Line Solid-Phase Extraction and HPLC Determination of Phthalic Acid Monoesters Including Desorption with Subcritical Water. // Moscow University Chem. Bulletin. 2015. V. 70. No. 5. P. 237–241.) SCOPUS: 0,150.

Иные публикации:

1. Статкус М.А., **Гончарова Е.Н.**, Цизин Г.И., Родин И.А., Рыбальченко И.В., Золотов Ю.А. Способ высокоэффективного жидкостно-хроматографического определения концентрации алкилфосфоновых и/или О-алкилалкилфосфоновых кислот в водном растворе. // Патент № 2653582. 11 мая 2018.

2. **Гончарова Е.Н.**, Семенова И.П., Статкус М.А., Цизин Г.И. Сорбционное концентрирование и ВЭЖХ-МС определение метил-, этил- и пропилфосфоновой кислоты с помощью пористого графитированного углеродного сорбента Hupercarb. / Тезисы докладов Третьего съезда аналитиков, Москва, 8 — 13 октября 2017 г., С. 157.

3. Горбачева С.Ю., **Гончарова Е.Н.**, Статкус М.А., Цизин Г.И. Модель сольватационных параметров Абрахама как инструмент описания удерживания в ВЭЖХ: применение к системам «углеродный сорбент Hupercarb — субкритическая вода» / Тезисы докладов Третьего съезда аналитиков, Москва, 8 — 13 октября 2017 г., С. 158.

4. **Гончарова Е.Н.**, Семенова И.П., Статкус М.А., Цизин Г.И. ВЭЖХ-МС определение метил-, этил- и пропилфосфоновой кислоты с помощью пористого графитированного углеродного сорбента Hupercarb / Тезисы докладов III Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез», Краснодар, 21 – 27 мая 2017 г., С. 63.

5. Горбачева С.Ю., **Гончарова Е.Н.**, Статкус М.А., Цизин Г.И. Удерживание аналитов на пористом графитированном углеродном сорбенте Hupercarb в среде субкритической воды: теоретическое описание с помощью модели сольватационных параметров Абрахама / Тезисы докладов III Всероссийской

конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез», Краснодар, 21 – 27 мая 2017 г., С. 171.

6. **Гончарова Е.Н.**, Статкус М.А., Цизин Г.И. Разделение и концентрирование гидрофильных фосфорорганических соединений с использованием сорбента Нурpercarb / Тезисы докладов V Всероссийского симпозиума «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии», Краснодар, 7 — 13 октября 2018 г., С. 20.

7. Статкус М.А., **Гончарова Е.Н.**, Цизин Г.И. Субкритическая вода для хроматографического разделения и сорбционного концентрирования веществ / Тезисы докладов V Всероссийского симпозиума «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии», Краснодар, 7 — 13 октября 2018 г., С. 172.

8. **Гончарова Е.Н.**, Семенова И.П., Статкус М.А., Цизин Г.И. Сорбционно-ВЭЖХ определение фталевой кислоты и ее эфиров с использованием углеродных сорбентов: схемы с использованием субкритической воды / Тезисы докладов X Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика-2016», Углич, 26 июня — 2 июля 2016 г., С. 36.

9. Statkus M.A., Borisova D.R., **Goncharova E.N.**, Vasil'eva I.D., Tsysin G.I. Desorption with subcritical water for solid-phase extraction sample preparation: analyte stability studies and recovery predictions / Theses of 17th International Symposium on Advances in Extraction Technologies ExTech-2015, Guangzhou, China, 8 — 10 November 2015.

10. Статкус М.А., Борисова Д.Р., **Гончарова Е.Н.**, Васильева И.Д., Цизин Г.И. Применение субкритической воды для хроматографического разделения и сорбционного концентрирования веществ / Тезисы докладов Всероссийской конференции "Теория и практика хроматографии», Самара, 25 — 29 мая 2015 г.

11. Statkus M., **Goncharova E.**, Gorbacheva S., Tsysin G. Subcritical water as an eluent for flow analysis systems including solid-phase extraction / Theses of 21st International Conference on Flow Injection Analysis and Related Techniques, St. Petersburg, Russia, 4 — 5 September 2017, P. 43.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает искреннюю признательность научным руководителям д.х.н. Цизину Г.И. и к.х.н. Статкусу М.А., а также проф., д.х.н. Рыбальченко И.В., д.х.н. Родину А.И. и его научной группе, к.вет.н. Селимову Р.Н. за помощь в работе и обсуждении результатов.