

На правах рукописи



Дербина Анастасия Андреевна

**ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОЭМУЛЬСИЙ ТИПА «ВОДА В МАСЛЕ»
В МИКРОЭМУЛЬСИОННОЙ ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКОЙ
ХРОМАТОГРАФИИ**

02.00.02 – Аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2015

Работа выполнена на кафедре аналитической химии Химического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» (МГУ имени М.В.Ломоносова)

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Пирогов Андрей Владимирович

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор
Карцова Людмила Алексеевна
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

кандидат химических наук, с.н.с.
Назимов Игорь Владимирович
ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»

Ведущая организация: **ФГБУН «Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН»**

Защита состоится «17» февраля 2016 г. в 15 ч 00 мин в аудитории 446 на заседании диссертационного совета Д 501.001.88 по химическим наукам при Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова по адресу: 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, МГУ имени М.В.Ломоносова, Химический факультет.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке МГУ имени М.В.Ломоносова и на сайте Химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова <http://chem.msu.ru>. Текст автореферата размещен на сайте ВАК России <http://vak.ed.gov.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2015 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 501.001.88,
кандидат химических наук



Моногорова О.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы.

Микроэмульсионная электрокинетическая хроматография (МЭЭКХ) представляет собой разновидность капиллярного электрофореза с использованием микроэмульсии в качестве фонового электролита. Этот метод, впервые предложенный в 1991 году, пригоден для определения веществ, имеющих различие в электрофоретической подвижности, и позволяет с высокой эффективностью разделять сложные смеси заряженных и нейтральных веществ. Подавляющее число работ, посвященных методу МЭЭКХ, основано на использовании в качестве фоновых электролитов микроэмульсий типа «масло в воде» (М/В).

В 2001 году впервые было предложено использовать обратные микроэмульсии типа «вода в масле» (В/М) в качестве фоновых электролитов в капиллярном электрофорезе. Этой разновидности МЭЭКХ посвящено лишь несколько работ, должного развития (на наш взгляд, незаслуженно) он так и не получил. Уникальное дифильное строение В/М микроэмульсий открывает возможность использования такого рода систем в пробоподготовке, а также в роли реакционных сред. Представляется интересным изучение возможностей сочетания В/М МЭЭКХ с различными вариантами он-лайн концентрирования, установление зависимостей поведения аналитов в среде микроэмульсий, а также оценка областей применимости этого метода на примере анализа объектов различной природы.

Цель работы заключалась в разработке подхода к использованию микроэмульсий типа «вода в масле» как экстрагентов при пробоподготовке, в роли реакционных сред для проведения реакций дериватизации в капилляре, а также в качестве фоновых электролитов в МЭЭКХ в сочетании с различными вариантами он-лайн концентрирования.

Достижение поставленной цели включало в себя решение следующих конкретных задач:

1. Оценка применимости метода В/М МЭЭКХ на примере определения веществ различной полярности. Исследование влияния состава микроэмульсии «вода в масле» на скорость миграции и селективность разделения модельной смеси неорганических анионов методом МЭЭКХ.
2. Расчет и сравнение электрофоретических подвижностей неорганических анионов, полученных методом В/М МЭЭКХ и другими вариантами капиллярного электрофореза.
3. Оценка возможности сочетания метода В/М МЭЭКХ с различными вариантами он-лайн концентрирования в капилляре (стэкинг с усилением поля, электростэкинг, свипинг полярных соединений).

4. Выявление преимуществ применения микроэмульсий «вода в масле» в качестве экстрагентов в пробоподготовке при анализе объектов со сложной матрицей (продукты питания, лекарственные препараты).
5. Использование В/М микроэмульсий в роли реакционных сред для проведения он-лайн дериватизации в капилляре.

Научная новизна работы.

Показано, что метод МЭЭКХ с применением микроэмульсий типа «вода в масле» непригоден для разделения смесей гидрофобных веществ неионогенной природы, в отличие от метода М/В МЭЭКХ. Проведено сравнение электрофоретических подвижностей неорганических анионов в методе В/М МЭЭКХ и других вариантах капиллярного электрофореза. Установлено, что скорость миграции неорганических анионов в В/М МЭЭКХ на порядок меньше, чем в методах капиллярного зонного электрофореза (КЗЭ) и М/В МЭЭКХ.

Продемонстрирована возможность использования различных вариантов он-лайн концентрирования в сочетании с методом В/М МЭЭКХ, позволяющих снизить пределы обнаружения исследуемых аналитов на три порядка. Предложено применять свипинг в этом варианте капиллярного электрофореза для концентрирования полярных веществ неионогенной природы.

На примере анализа продуктов питания и лекарственного препарата продемонстрированы преимущества применения В/М микроэмульсий в качестве экстрагентов в пробоподготовке. Растворение образцов в обратной микроэмульсии позволило значительно упростить эту стадию и сократить ее время до 2 мин при количественном извлечении компонентов пробы.

Предложено использовать В/М микроэмульсии в роли реакционных сред для дериватизации аналитов. Установлено, что реакция значительно ускоряется в микроэмульсионной среде, при этом не требуется дополнительного нагревания. Предложен способ проведения дериватизации в капилляре в режиме он-лайн.

Показана возможность дериватизации антибиотиков в режиме он-лайн в среде М/В и В/М микроэмульсий. Продемонстрирована возможность сочетания концентрирования антибиотиков в капилляре (стэкинг с большим объемом пробы и переключением полярности или электростэкинг) с последующей он-лайн дериватизацией. Сочетание рассмотренных подходов позволяет снизить пределы обнаружения антибиотиков в 10^4 раз и достичь пределов обнаружения порядка 0.6 мкг/л.

Практическая значимость работы.

1. Предложен способ чувствительного определения йодид-иона в образцах продуктов питания (куриных яйцах и морской капусте) методом В/М МЭЭКХ в сочетании с

предварительным электростэкингом. Пределы обнаружения йодида составили 7 мкг/кг куриного яйца и 9 мкг/кг свежей морской капусты, соответственно.

2. Разработан простой и экспрессный способ определения консервантов (сорбиновой и бензойной кислот) в майонезе методом В/М МЭЭКХ, предусматривающий применение В/М микроэмульсий в роли экстрагентов в пробоподготовке. Стадия пробоподготовки предусматривает только лишь растворение образца майонеза в небольшом объеме микроэмульсии в течение 2 мин.
3. Предложен чувствительный способ определения антибиотиков пенициллинового ряда (ампициллина и амоксициллина) методом МЭЭКХ с использованием М/В или В/М микроэмульсий, предусматривающий сочетание внутрикапиллярного концентрирования с последующей он-лайн дериватизацией аналитов в капилляре. Разработанный способ позволяет снизить пределы обнаружения антибиотиков до 0.6 мкг/л. Применимость разработанного подхода продемонстрирована на примере определения ампициллина и амоксициллина в биологической жидкости.

Положения, выносимые на защиту:

1. Предположения о механизме разделения аналитов при использовании микроэмульсий «вода в масле» в качестве фоновых электролитов.
2. Результаты влияния состава В/М микроэмульсии на селективность и эффективность разделения неорганических анионов.
3. Результаты сравнения скорости миграции определяемых веществ в В/М МЭЭКХ и других вариантах капиллярного электрофореза.
4. Варианты сочетания он-лайн концентрирования с методом В/М МЭЭКХ и примеры практического применения предложенных подходов для анализа реальных объектов.
5. Совокупность данных о достоинствах использования В/М микроэмульсий в пробоподготовке в качестве экстрагентов и в роли реакционных сред.

Апробация работы. Основное содержание работы изложено в 10 публикациях. Результаты исследований докладывались на II Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» (Краснодар, 2013); 19th International Symposium on Separation Sciences «New Achievements in Chromatography» (Пореч, Хорватия, 2013); 40th International Symposium on the High Performance Liquid Phase Separations and the Related Techniques (Хобарт, Австралия, 2013); 30th International Symposium on Chromatography «Communicating Separation Science for the Future» (Зальцбург, Австрия, 2014); 18th edition of Euroanalysis, the European Conference on Analytical Chemistry (Бордо, Франция, 2015).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 4 статьи и 6 тезисов докладов.

Вклад автора в представленную работу.

В основу диссертации положены результаты научных исследований, выполненных непосредственно автором в период с 2012 по 2015 гг. Личный вклад соискателя состоит в планировании и проведении экспериментов, обработке и интерпретации полученных результатов, подготовке публикаций по теме диссертации, а также формулировке защищаемых научных положений и выводов. Работа выполнена автором в лаборатории хроматографии кафедры аналитической химии Химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, 4 глав обсуждения результатов, общих выводов и списка цитируемой литературы. Материал изложен на 155 страницах машинописного текста, содержит 62 рисунка и 17 таблиц. В списке цитируемой литературы 162 публикации.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение

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

Обзор литературы

В обзоре литературы, представленном в **первой главе**, систематизированы данные о строении и свойствах микроэмульсий, применении их в различных методах аналитической химии и других областях.

В главе *«Микроэмульсии: строение и свойства»* описаны свойства микроэмульсий, их структура и классификация, а также представлены свойства и основные типы поверхностно-активных веществ, входящих в состав микроэмульсий. Глава *«Мицеллярная электрокинетическая хроматография (МЭКХ)»* посвящена рассмотрению особенностей метода мицеллярной электрокинетической хроматографии, описанию механизма разделения веществ в данном варианте капиллярного электрофореза. В главе *«Микроэмульсионная электрокинетическая хроматография»* рассмотрено применение микроэмульсий типа «масло в воде» и «вода в масле» в качестве фоновых электролитов в капиллярном электрофорезе. Показано влияние состава микроэмульсий на скорость миграции и селективность разделения аналитов в варианте М/В МЭКХ, представлены примеры практического применения этого метода. Отмечено, что использованию микроэмульсий типа «вода в масле» в методе МЭКХ посвящено менее десяти работ. В главе *«Другие применения микроэмульсий»* приведены данные об использовании микроэмульсий в других методах аналитической химии (хроматографии, спектроскопических методах

анализа), а также в роли реакционных сред и фармацевтике. Показано, что уникальное строение микроэмульсий делает их применимыми в различных областях. В главе «Методы он-лайн концентрирования в капиллярном электрофорезе» представлены основные способы концентрирования в капилляре, описаны условия их сочетания с различными вариантами капиллярного электрофореза и примеры их практического применения. Сделанные на основании обзора литературы выводы подтверждают актуальность выбранной темы исследования.

Аппаратура, материалы и техника эксперимента

Во **второй** главе перечислены аппаратура, материалы и реагенты, использованные в работе. Приведены описания способов приготовления микроэмульсий и пробоподготовки исследуемых образцов.

Эксперименты проводили на следующих системах для капиллярного электрофореза: Agilent 3DCE или Agilent 7100, оснащенных диодно-матричным детектором, автосэмплером, системой контроля температуры в диапазоне (15 – 60) ± 0.1 °С (Agilent Technologies, США). В работе использовали кварцевые капилляры общей длиной 64.5, 48.5 и 33.5 см (эффективной длиной 56, 40 и 25 см, соответственно) и внутренним диаметром 50 или 75 мкм (Polymicro Technologies, Phoenix, USA), а также капилляр общей длиной 48.5 см (эффективной длиной 40 см), внутренним диаметром 75 мкм с увеличенной длиной оптического пути (Z-ячейка).

В качестве объектов исследования использовали образцы морской воды, куриных яиц, морской капусты, майонеза, лекарственные препараты «Ацикловир» и «Д-пантенол» в мазевой форме, а также образцы мочи.

Характеристика В/М микроэмульсий как фоновых электролитов в капиллярном электрофорезе

В **третьей** главе проведена оценка применимости метода В/М МЭЭКХ на примере определения веществ различной полярности, исследование влияния состава В/М микроэмульсии на скорость миграции, селективность и эффективность разделения модельной смеси неорганических анионов методом МЭЭКХ, а также проведено сравнение электрофоретических подвижностей неорганических анионов, полученных методом В/М МЭЭКХ и другими вариантами капиллярного электрофореза.

Оценка применимости метода В/М МЭЭКХ

Оценку применимости метода МЭЭКХ с использованием микроэмульсий типа «вода в масле» проводили для смесей веществ различной полярности. В качестве исследуемой смеси гидрофобных веществ неионогенной природы выбрана смесь бензола и пяти алкилбензолов. Для сравнения эти вещества определяли также

методом МЭЭКХ с использованием микроэмульсии типа «масло в воде». Электрофореграммы, полученные двумя методами, представлены на рис. 1.

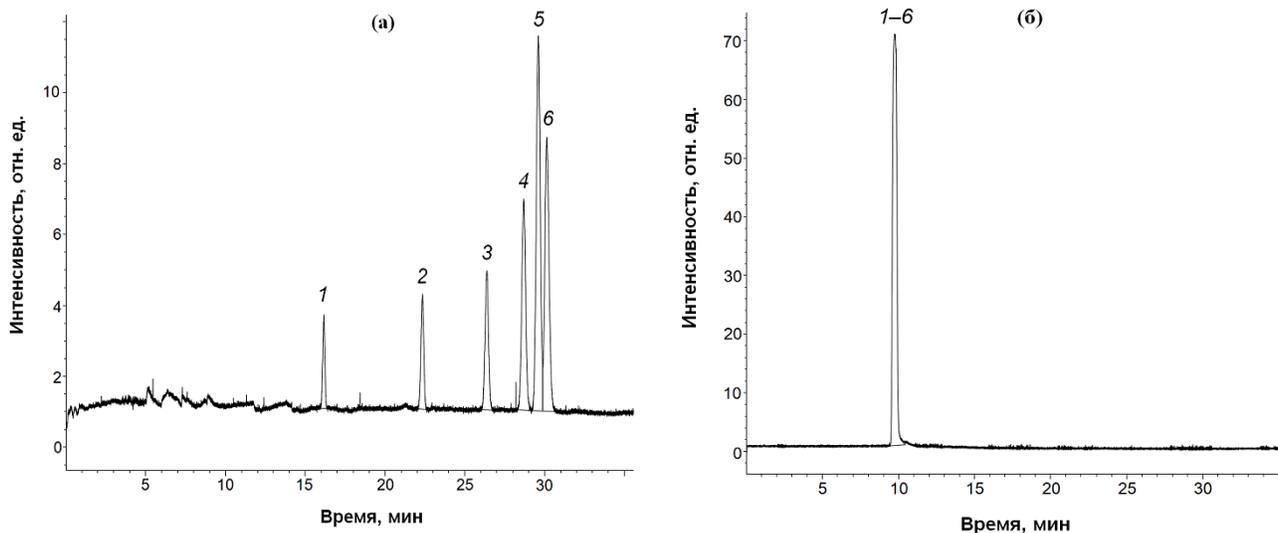


Рис. 1. Электрофореграммы модельной смеси бензола и алкилбензолов ($c = 100$ мг/л) методом МЭЭКХ в вариантах М/В (а) и В/М (б), с фоновым электролитом 3.3% додецилсульфата натрия (ДДСН), 0.8% *n*-гептана, 8.0% бутанола-1, 87.9% 10 мМ боратного буферного раствора, рН 9.3 (а) и 5% ДДСН, 80% бутанола-1, 15% 70 мМ фосфатного буферного раствора, рН 7.0 (б). 1 – бензол, 2 – толуол, 3 – этилбензол, 4 – пропилбензол, 5 – бутилбензол, 6 – гексилбензол. Условия разделения: ввод пробы гидродинамический (25 мбар/ 10 сек); напряжение +10 кВ (а), -30 кВ (б); 25 °С; детектирование при 210 нм.

Смесь гидрофобных веществ удалось разделить только в случае МЭЭКХ с использованием М/В микроэмульсий. В этом варианте электрофореза разделение гидрофобных компонентов основано на распределении веществ между неполярной фазой масла и полярной водной фазой.

В варианте В/М МЭЭКХ смесь веществ разделить не удалось, все аналиты обладают одинаковой электрофоретической подвижностью. Полученные результаты свидетельствуют о том, что гидрофобные вещества, имеющие сродство к неполярной органической фазе, преимущественно находятся в бутаноле-1, при этом не проникая в более полярную фазу капель. Таким образом, метод В/М МЭЭКХ с использованием микроэмульсии исследуемого состава, по-видимому, мало пригоден для разделения смесей гидрофобных веществ одного гомологического ряда.

Метод В/М МЭЭКХ использовали для разделения смесей гидрофильных веществ как нейтрального, так и ионогенного характера. На рис. 2 представлена электрофореграмма модельной смеси неорганических анионов, полярных органических кислот и пропилбензола. Показано, что метод В/М МЭЭКХ пригоден для определения полярных веществ не только органической, но и неорганической природы.

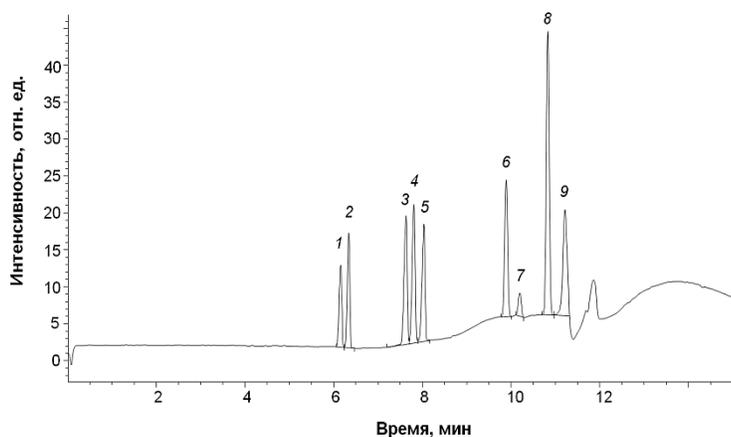


Рис. 2. Электрофореграмма модельной смеси неорганических анионов, органических кислот и пропилбензола ($c = 50$ мг/л) в варианте В/М МЭЭКХ. 1 – тиоцианат, 2 – йодид, 3 – бромид, 4 – нитрат, 5 – нитрит, 6 – бензойная кислота, 7 – сорбиновая кислота, 8 – 4-аминобензойная кислота, 9 – пропилбензол. Детектирование при 200 нм. Остальные условия указаны в подписи к рис. 1б.

Влияние состава В/М микроэмульсий на селективность разделения неорганических анионов

Влияние состава В/М микроэмульсий на времена миграции, селективность и эффективность разделения определяемых веществ методом МЭЭКХ рассмотрено на примере модельной смеси пяти неорганических анионов (тиоцианат-, йодид-, бромид-, нитрат- и нитрит-ионов). Кроме того, рассмотрено влияние температуры и напряжения на разделение аналитов.

1) Тип и концентрация поверхностно-активного вещества (ПАВ)

Установлено, что катионные ПАВ в составе микроэмульсионных фоновых электролитов непригодны для разделения исследуемых анионов, В/М микроэмульсии на основе анионных ПАВ оказались более устойчивыми. Использование гептилсульфоната натрия (C_7) привело к высокому шуму базовой линии и плохому разделению веществ. Увеличение длины углеродного радикала в составе ПАВ (от C_8 до C_{12}) приводит к снижению времен миграции анионов, в случае нонилсульфоната натрия (C_9) наблюдали наложение пиков нитрата и бромида. Использование додецилсульфата натрия (ДДСН) позволило добиться лучшего разрешения пиков всех анионов.

Содержание ДДСН варьировали в диапазоне от 3 до 10% при неизменном содержании водной фазы микроэмульсии. Увеличение концентрации ПАВ приводит к замедлению миграции анионов и улучшению разрешения. Микроэмульсии с содержанием ПАВ 6% и выше оказались неустойчивыми и расслаивались через некоторое время (при постоянной концентрации водной фазы 15%). Таким образом, в качестве оптимальной была выбрана концентрация ДДСН 5%.

2) Тип и концентрация масла, дополнительная добавка органической фазы

В качестве масла в составе В/М микроэмульсий используют органические растворители, ограниченно смешивающиеся с водой. Найдено, что фоновые электролиты на основе пентанола-1, гексанола-1 и циклогексанола-1 при наложении электрического поля в кварцевом капилляре дают высокий шум базовой линии и

низкое разрешение пиков определяемых веществ, использование же октанола-1 приводит к расслаиванию водной и органической фаз. Установлено, что стабильную микроэмульсию образует только бутанол-1.

Содержание бутанола-1 варьировали в диапазоне от 60 до 85% при неизменном соотношении водной фазы и ПАВ (3:1, мас.). При содержании бутанола-1 меньше 80% наблюдали перекрывание пиков бромида и нитрата. Таким образом, в качестве оптимальной была выбрана концентрация органической фазы 80%.

Добавление различных n-алканов с концентрацией 2% (n-пентана, n-гексана, n-гептана, n-октана, циклогексана) в микроэмульсию состава 78% бутанола-1, 5% ДДСН, 15% 70 мМ фосфатного буферного раствора не оказало влияния на времена миграции и разрешение пиков.

3) Содержание водной фазы, тип и концентрация буферного раствора

Содержание водной фазы, при котором образуется стабильная микроэмульсия, варьировали в диапазоне от 10 до 15% (при постоянной концентрации ДДСН 5%). Увеличение концентрации водной фазы привело к повышению скорости миграции аналитов и улучшению разрешения.

Тип и концентрация водных буферных растворов играет важную роль в дисперсии фаз микроэмульсионной системы. Рассмотрено влияние различных типов буферных растворов (ацетатного, боратного, гидрофталатного, фосфатного, цитратного, ТРИС) с рН 7.0 на разделение аналитов. Гидрофталатный буферный раствор в составе обратной микроэмульсии дает высокий шум базовой линии. Фосфатный и ацетатный буферные растворы показали полное разделение всех пиков определяемых анионов.

При увеличении концентрации фосфатного буферного раствора от 20 до 70 мМ времена миграции анионов практически не изменились, при этом наблюдалось незначительное улучшение разрешения пиков. Кроме того, уменьшение концентрации буферного раствора привело к увеличению шума базовой линии. Таким образом, в качестве оптимального было выбрано содержание 15% 70 мМ фосфатного буферного раствора в составе В/М микроэмульсии.

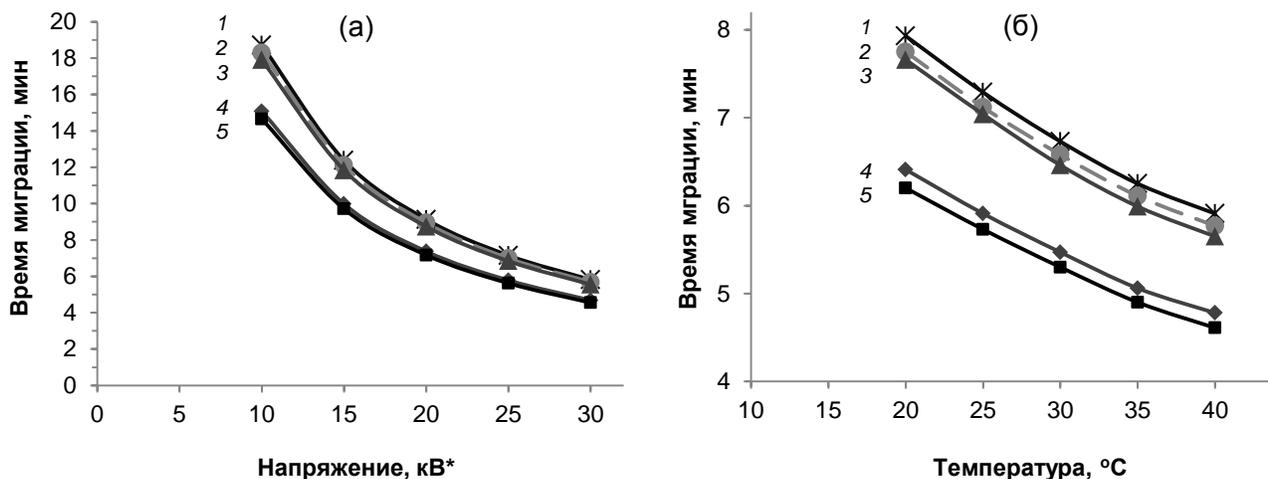
4) Варьирование рН микроэмульсии

Рассмотрено влияние рН водной фазы микроэмульсии на времена миграции анионов. Значение рН фосфатного буферного раствора в составе В/М микроэмульсии варьировали в диапазоне от 3.0 до 8.0.

Использование в качестве фоновых электролитов микроэмульсий со значениями рН водной фазы 6.0 и ниже привело к ухудшению разрешения и перекрыванию пиков нитрата и нитрита. В качестве оптимального выбрано значение рН 7.0, при котором наблюдалось наилучшее разрешение всех пиков определяемых анионов.

5) Варьирование температуры и напряжения

Зависимость приложенного напряжения и температуры термостатирования на селективность разделения анионов представлено на рис. 3. Повышение напряжения приводит к ускорению миграции и улучшению разрешения пиков всех определяемых веществ. Влияние температуры носит аналогичный характер. Для экспрессного анализа с хорошим разрешением пиков выбраны оптимальные значения температуры 40 °С и напряжения 30 кВ (в варианте с обращением полярности).



* - напряжение в режиме с обращением полярности электродов

Рис. 3. Влияние напряжения (а) и температуры (б) на времена миграции неорганических анионов. 1 – нитрит, 2 – нитрат, 3 – бромид, 4 – йодид, 5 – тиоцианат.

На рис. 4 представлена электрофореграмма модельной смеси анионов в варианте В/М МЭЭКХ при оптимальных условиях разделения.

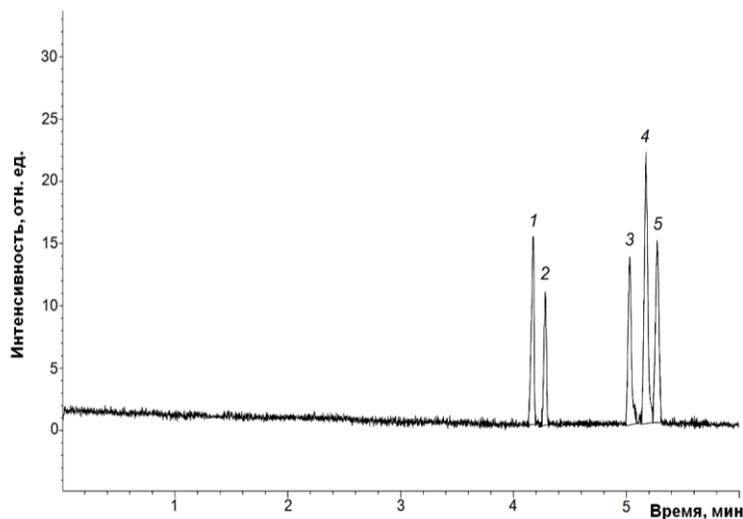


Рис. 4. Электрофореграмма модельной смеси неорганических анионов ($c = 25$ мг/л) в варианте В/М МЭЭКХ. Фоновый электролит: 5% ДДСН, 80% бутанола-1, 15% 70 мМ фосфатного буферного раствора, рН 7.0. 1 – тиоцианат, 2 – йодид, 3 – бромид, 4 – нитрат, 5 – нитрит. Ввод пробы: 50 мбар/ 10 сек. Условия разделения: кварцевый капилляр общей длиной 33.5 см (эффективной длиной 25 см) и диаметром 50 мкм, напряжение -30 кВ, детектирование при 200 нм.

Сравнение электрофоретических подвижностей анионов в методе В/М МЭЭКХ и других вариантах капиллярного электрофореза

Для изучения характера миграции заряженных аналитов было проведено сравнение электрофоретических подвижностей неорганических анионов, определенных в различных вариантах капиллярного электрофореза: классический капиллярный зонный электрофорез (КЗЭ), М/В МЭЭКХ и В/М МЭЭКХ.

В случае КЗЭ в качестве фонового электролита использовали 70 мМ фосфатный водный буферный раствор, рН 7.0. Вариант М/В МЭЭКХ отличался от КЗЭ добавлением органической фазы и ПАВ, водная составляющая осталась идентичной. Из полученных электрофореграмм, представленных на рис. 5, видно, что лучшего разделения анионов удалось достичь в варианте М/В МЭЭКХ: пики, соответствующие бромид- и йодид-иону, разрешились практически полностью. Порядок миграции аналитов в обоих случаях оказался идентичным, что может свидетельствовать о незначительном вкладе микроэмульсионных капель в подвижность определяемых компонентов.

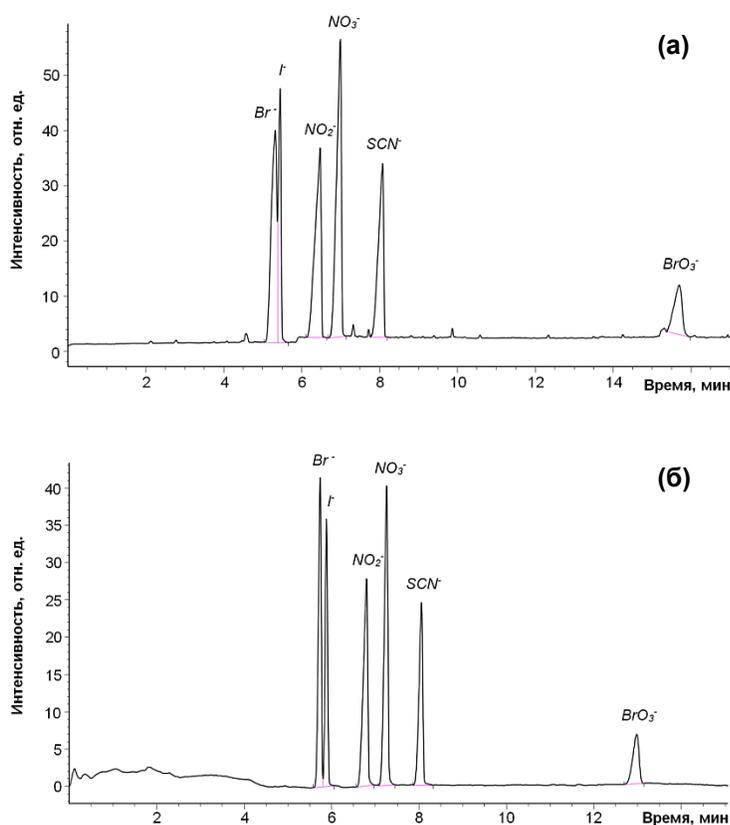


Рис. 5. Электрофореграммы модельной смеси неорганических анионов ($c = 50$ мг/л) в варианте КЗЭ (а) и М/В МЭЭКХ (б). Фоновый электролит: 70 мМ фосфатный буферный раствор, рН 7.0 (а) и 3.3% ДДСН, 0.8% гептана, 8.0% бутанола-1, 87.9% 70 мМ фосфатного буферного раствора, рН 7.0 (б). Условия разделения: капилляр общей длиной 41.5 см (эффективной длиной 33 см) и диаметром 50 мкм, ввод пробы: 50 мбар/ 10 сек, напряжение -12 кВ, температура 25 °С, детектирование при 200 нм.

Для сравнения миграции анионов в различных вариантах капиллярного электрофореза исследуемые вещества были определены в варианте В/М МЭЭКХ, где водная фаза была та же, что и в двух предыдущих случаях. Для оценки влияния водных капель обратной микроэмульсии на электрофоретическую подвижность анионов проводили их определение методом капиллярного электрофореза (КЭ) при

использовании в качестве фонового электролита только бутанола-1. В связи с очень низкой электропроводностью этого фонового электролита электроосмотический поток в капилляре практически отсутствовал, что очень сильно увеличивало время анализа. Для повышения проводимости к бутанолу-1 добавили ацетат натрия до образования насыщенного раствора.

На рис. 6 представлены электрофореграммы анионов в варианте капиллярного электрофореза с использованием бутанола-1 в качестве фонового электролита, а также в варианте В/М МЭЭКХ. Видно, что добавление в фазу бутанола-1 водной составляющей не оказывает влияние на порядок миграции анионов, однако значительно улучшает разрешение и форму пиков.

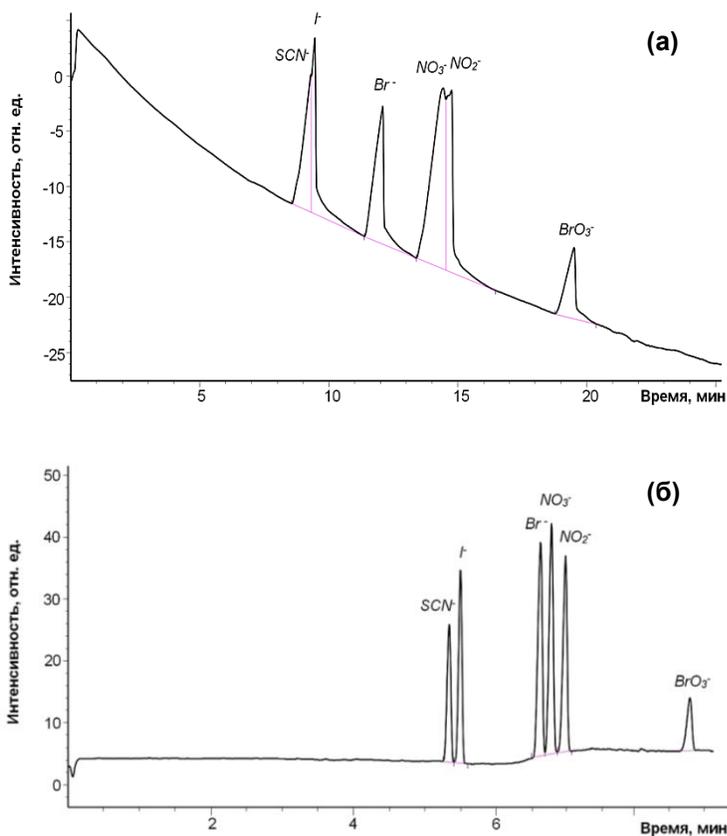


Рис. 6. Электрофореграммы модельной смеси неорганических анионов ($c = 50$ мг/л) в варианте КЭ (фоновый электролит – бутанол-1) (а) и В/М МЭЭКХ (б). Фоновый электролит: насыщенный раствор ацетата натрия в бутаноле-1 (а) и 5% ДДСН, 80% бутанола-1, 15% 70 мМ фосфатного буферного раствора, рН 7.0 (б). Напряжение -30 кВ. Остальные условия указаны в подписи к рис. 5.

Для всех вариантов были рассчитаны электрофоретические подвижности исследуемых анионов (рис. 7). Из полученных результатов видно, что в вариантах КЭ и М/В МЭЭКХ подвижность анионов приблизительно в 10 раз выше, чем для случаев В/М МЭЭКХ и капиллярного электрофореза с использованием бутанола-1 в качестве фонового электролита. Важно отметить, что порядок миграции анионов в М/В МЭЭКХ значительно отличается от варианта В/М МЭЭКХ, что свидетельствует о принципиально другом механизме разделения аналитов. Вероятно, это может быть обусловлено разницей в сольватационных эффектах растворителей, являющихся основой фоновых электролитов (водной фазы или бутанола-1, соответственно). Добавление в эти фазы противоположных по гидрофобности капель микроэмульсии

(масла или воды) сказывается в основном на улучшении разрешения пиков определяемых компонентов.

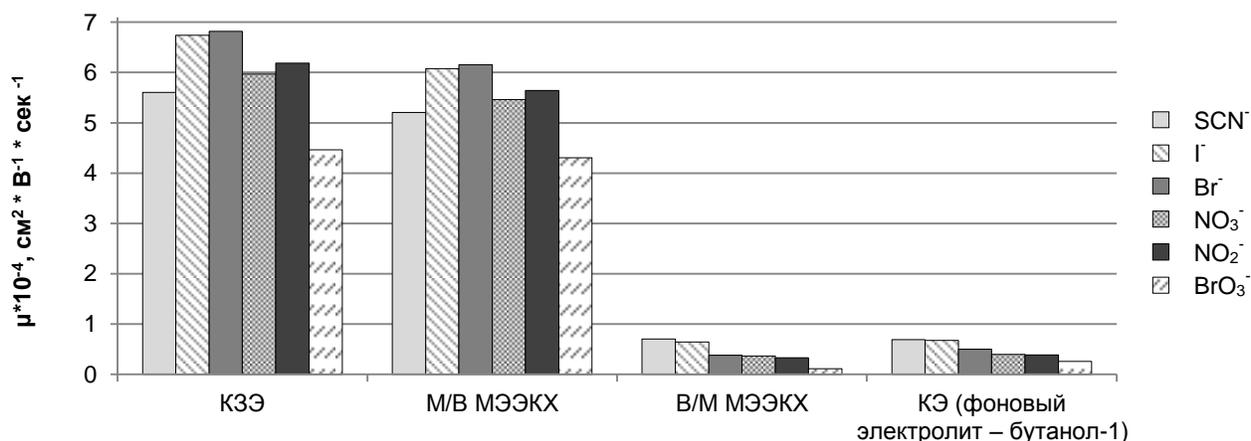


Рис. 7. Зависимость электрофоретической подвижности неорганических анионов от варианта электромиграционных методов.

Сочетание различных вариантов он-лайн концентрирования с В/М МЭЭКХ

В четвертой главе рассмотрено сочетание различных вариантов он-лайн концентрирования с методом В/М МЭЭКХ и примеры практического применения предложенных подходов для анализа реальных объектов.

1) Стэкинг с усилением поля

Стэкинг с усилением поля является одним из наиболее простых вариантов он-лайн концентрирования, основанным на гидродинамическом вводе широкой зоны образца, растворенного в низкопроводящей матрице с последующим концентрированием заряженных компонентов пробы на границе с фоновым электролитом. В нашей работе для более эффективного концентрирования изучено сочетание метода В/М МЭЭКХ со стэкингом с усилением поля и пробкой органического растворителя (бутанола-1). Установлено, что наилучшие коэффициенты концентрирования неорганических анионов достигаются при следующих условиях: гидродинамический ввод (при 50 мбар) зоны бутанола-1 в течение 10 сек, затем раствора пробы в течение 100 сек. После стадии ввода пробы входной конец капилляра помещают в раствор фонового электролита и прикладывают напряжение -30 кВ. При этом наблюдается концентрирование анионов в зоне бутанола-1. Стэкинг с усилением поля позволил сконцентрировать исследуемые анионы в 10-15 раз.

2) Электростэкинг

Применение одного из наиболее эффективных вариантов концентрирования ионогенных аналитов, электростэкинга, рассмотрено на примере модельной смеси неорганических анионов. В качестве органического модификатора для

дополнительного увеличения коэффициента концентрирования перед электрокинетическим вводом пробы гидродинамически вводят зону бутанола-1 (50 мбар/ 10 сек). Затем входной капилляра помещают в раствор пробы и прикладывают напряжение -20 кВ в течение 30 сек. После электрокинетического ввода пробы входной конец капилляра помещают в раствор фонового электролита (В/М микроэмульсию) и прикладывают напряжение -30 кВ для начала разделения компонентов пробы. На рис. 8 представлена электрофореграмма модельной смеси неорганических анионов в варианте В/М МЭЭКХ в сочетании с электростэкингом.

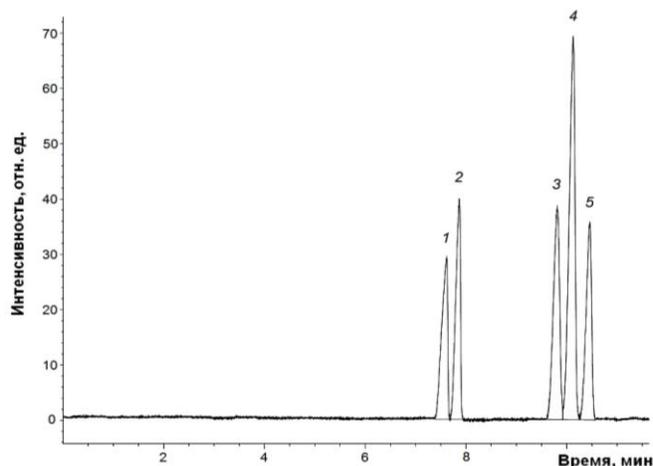


Рис. 8. Электрофореграмма модельной смеси неорганических анионов ($c = 0.1$ мг/л) в варианте В/М МЭЭКХ в сочетании электростэкингом. Пики: 1 – тиоцианат, 2 – йодид, 3 – бромид, 4 – нитрат, 5 – нитрит. Ввод пробы: ввод зоны бутанола-1 (50 мбар/ 10 сек), затем раствора пробы (-20 кВ/ 30 сек). Условия разделения: кварцевый капилляр общей длиной 48.5 см (эффективной длиной 40 см) и диаметром 50 мкм. Остальные условия указаны в подписи к рис. 4.

В табл. 1 показано использование вариантов В/М МЭЭКХ в сочетании с электростэкингом и стэкингом с усилением поля в сравнении с обычным вводом пробы. В отличие от обычного стэкинга, для которого коэффициенты концентрирования составляют 10-15, электростэкинг позволяет снизить пределы обнаружения аналитов до 10^3 раз, $C_{\text{мин}}$ составил 2-5 мкг/л для определяемых анионов.

Таблица 1. Сравнение различных вариантов концентрирования, используемых в сочетании с методом В/М МЭЭКХ, с обычным вводом пробы.

| Анион | $C_{\text{мин}}$, мг/л | | | Коэффициент концентрирования | |
|-----------|-------------------------|--------------------------|-----------------|------------------------------|-----------------|
| | Обычный ввод пробы | Стэкинг с усилением поля | Электро-стэкинг | Стэкинг с усилением поля | Электро-стэкинг |
| Тиоцианат | 3 | 0.2 | 0.005 | 15 | 600 |
| Йодид | 4 | 0.4 | 0.004 | 10 | 1000 |
| Бромид | 3 | 0.3 | 0.004 | 10 | 750 |
| Нитрат | 2 | 0.2 | 0.002 | 10 | 1000 |
| Нитрит | 3 | 0.2 | 0.004 | 15 | 750 |

3) Свипинг полярных соединений неионогенной природы

Способ концентрирования незаряженных веществ, называемый свипингом, основан на концентрировании аналитов псевдостационарной фазой (мицеллами, каплями микроэмульсий, комплексообразующими веществами), которая проникает в зону образца, не содержащую мицелл. Этот вариант обычно пригоден для концентрирования гидрофобных веществ. Нами впервые предложен вариант свипинга для концентрирования нейтральных веществ гидрофильной природы, основанный на взаимодействии аналитов с полярными каплями микроэмульсий типа «вода в масле».

На рис. 9 проиллюстрирован механизм свипинга полярных соединений в варианте В/М МЭЭКХ с использованием отрицательно заряженной псевдостационарной фазы (водных капель обратной микроэмульсии). В кварцевый капилляр гидродинамически вводят большой объем пробы, растворенной в органическом растворителе (рис. 9а). Затем концы капилляра помещают в раствор фонового электролита (В/М микроэмульсию). После того, как приложено напряжение, гидрофильные незаряженные аналиты, не имеющие собственной подвижности, концентрируются полярными микроэмульсионными каплями, проникающими в зону пробы со стороны катода (рис. 9б, 9в). Далее происходит разделение сконцентрированных зон методом В/М МЭЭКХ (рис. 9г).

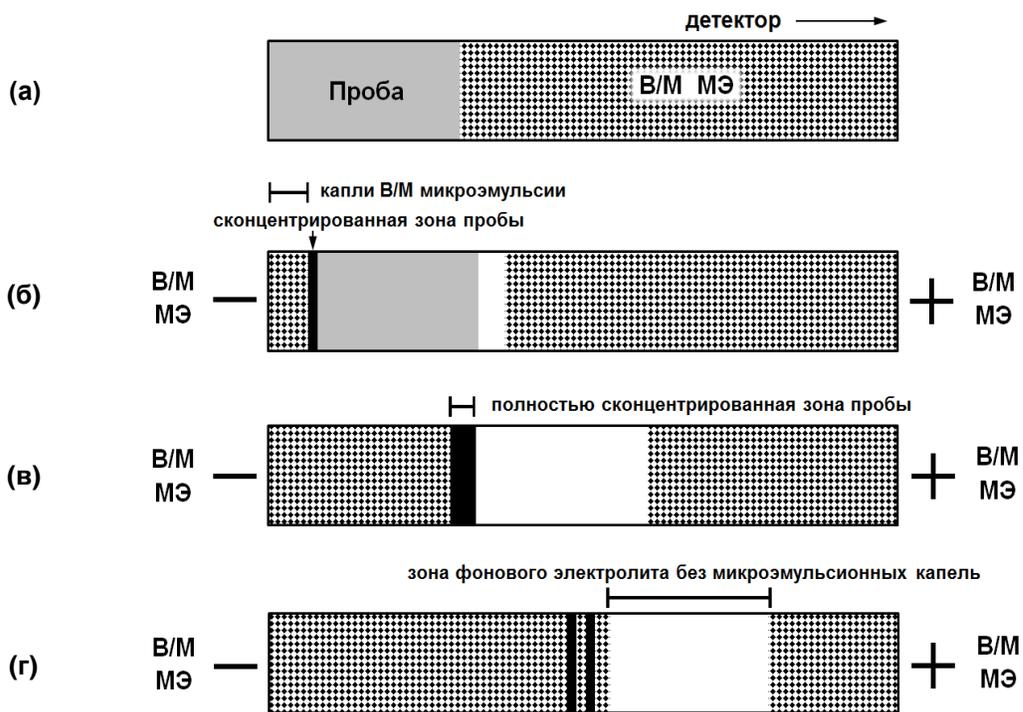


Рис. 9. Схема свипинга полярных соединений в методе В/М ВЭЭКХ.

Применение свипинга нейтральных молекул рассмотрено на примере определения лекарственного вещества ацикловира. Установлено, что для осуществления рассмотренного варианта концентрирования важен выбор

используемого в пробоподготовке растворителя, который не должен оказывать влияния на миграцию определяемого компонента в зоне пробы. Для экстракции ацикловира из образца мази целесообразно использовать бутанол-1. Предложенный способ позволил снизить пределы обнаружения ацикловира до $C_{\text{мин}} = 50$ мкг/л с коэффициентом концентрирования около 30.

Применение метода В/М МЭЭКХ в сочетании с электростэкингом при определении йодид-иона в продуктах питания

Важной задачей является определение содержания йода в различных продуктах питания с высокой чувствительностью. Практически все методы его определения требуют предварительной пробоподготовки, для большинства способов детектирования йода органическая составляющая пищевого продукта мешает проведению анализа. Нами предложен способ определения йодид-иона в продуктах питания методом В/М МЭЭКХ в сочетании с электростэкингом.

1) Определение содержания йода в куриных яйцах

Пробоподготовка гомогенизированного яйца предусматривает стадию смешивания образца с ацетонитрилом для осаждения белков. Подготовленную к анализу пробу определяли методом В/М МЭЭКХ в сочетании с предварительным электростэкингом. Оценку степени извлечения йодид-иона проводили путем введения добавок йодид-иона в образец гомогенизированного яйца. Степень извлечения определяемого аниона во всех случаях оказалась выше $(98 \pm 3)\%$. Результаты определения йодида в образцах куриных яиц различных марок представлены в табл. 2.

Таблица 2. Результаты определения йодид-иона в образцах куриных яиц различных марок ($n=3$, $P=0.95$).

| Куриное яйцо (производитель) | Найдено йодида, мкг/кг куриного яйца |
|--|---|
| «Натуральный продукт для здорового питания (яйцо куриное)» (ООО «ВЕЛЕС») | 370 ± 20 |
| Яйцо куриное «Окское» (ЗАО «Окская птицефабрика») | 440 ± 20 |

Предложенный подход по определению йодид-иона в гомогенизированном образце куриного яйца также применен для анализа белка и желтка по отдельности. Установлено, что определяемый компонент содержится исключительно в курином желтке, в белке содержание йодида оказалось ниже предела обнаружения для всех анализируемых образцов яиц. На рис. 10 представлена электрофореграмма яичного желтка. Предел обнаружения ($C_{\text{мин}}$) йодида составил 20 мкг/кг желтка куриного яйца (7 мкг/кг в пересчете на гомогенизированный образец яйца).

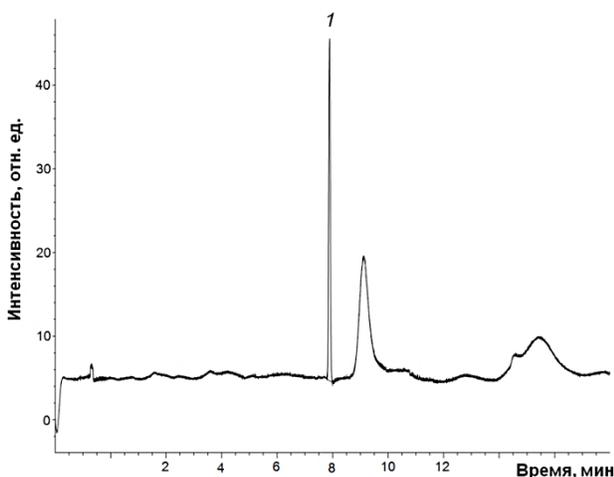


Рис. 10. Электрофореграмма куриного желтка образца «Натуральный продукт для здорового питания (яйцо куриное)» в варианте В/М МЭЭКХ в сочетании с электростэкинггом. 1 – йодид-ион. Условия разделения: температура 40 °С, детектирование при 222 нм. Остальные условия указаны в подписи к рис. 8.

2) Определение содержания йода в морской капусте

Установлено, что определение йода наиболее целесообразно проводить в высушенной морской капусте, нежели в свежем образце, поскольку в этом случае достигается наиболее полное извлечение аналита. Пробоподготовка заключалась в высушивании образца при температуре 110 °С в течение 2 часов до постоянной массы. Точную навеску 0.2 г высушенного образца тщательно измельчали в ступке, затем добавляли 10 мл деионизованной воды. При проведении УЗ обработки в течение 10 мин достигается практически количественное извлечение определяемого вещества (99 ± 3 %). Подготовленную к анализу пробу определяли методом В/М МЭЭКХ в сочетании с электростэкинггом, электрофореграмма представлена на рис. 11.

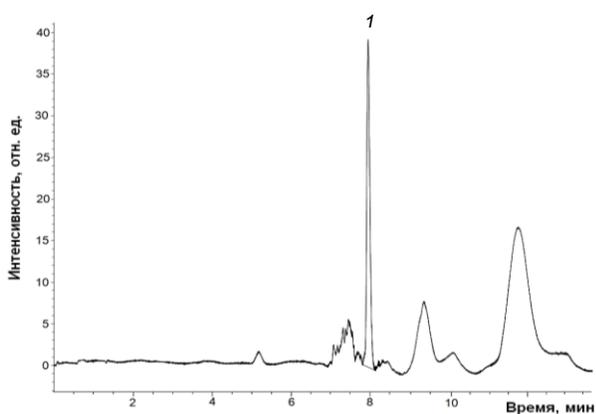


Рис. 11. Электрофореграмма образца высушенной морской капусты «Балтийский берег» в варианте В/М МЭЭКХ в сочетании с электростэкинггом. 1 – йодид-ион. Ввод пробы: ввод бутанола-1 (50 мбар/ 10 сек), затем раствора пробы (-20 кВ / 90 сек). Остальные условия указаны в подписи к рис. 10.

Результаты определения йодида в образцах морской капусты различных марок («Балтийский берег» и «Русское море») составляют 49 ± 3 и 40 ± 2 мг/кг высушенной морской капусты, соответственно ($n = 3$, $P = 0.95$). Предел обнаружения ($C_{\text{мин}}$) йодида составил 100 мкг/кг высушенного образца (9 мкг/кг в пересчете на свежую морскую капусту).

Таким образом, показано применение метода В/М МЭЭКХ в сочетании с электростэкинггом на примере анализа продуктов питания. Высокая солюбилизующая способность обратных микроэмульсий позволяет анализировать

концентрированные растворы проб, которые могут привести к забиванию капилляра в процессе анализа. Электростэкинг позволяет селективно вводить в капилляр заряженные аналиты и концентрировать их в высокой степени.

Применение В/М микроэмульсий в пробоподготовке

В пятой главе изучено применение В/М микроэмульсий в качестве экстрагентов в пробоподготовке. Одной из распространенных задач является анализ объектов с высоким содержанием жира в матрице, например, лекарственных препаратов в мазевой и кремовой формах, продуктов питания. Анализ этих объектов, как правило, предусматривает проведение сложной и многоступенчатой процедуры пробоподготовки. Нами предложен альтернативный вариант пробоподготовки, заключающийся в растворении образца в В/М микроэмульсии.

1) Определение консервантов в образцах майонеза

Одной из актуальных на сегодняшний день задач является анализ майонеза на содержание консервантов – сорбиновой и бензойной кислот. В соответствии с нормативным документом ГОСТ 31762-2012, определение консервантов проводят методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографией с длительной (порядка 2 ч) пробоподготовкой. Нами предложен альтернативный способ пробоподготовки майонеза, заключающийся в растворении навески образца в небольшом объеме В/М микроэмульсии в ультразвуковой ванне в течение 2 мин с последующим определением консервантов методом В/М МЭЭКХ.

Предложенный подход с использованием В/М микроэмульсий в пробоподготовке был успешно применен для анализа четырех майонезов различных марок, полученные результаты представлены в табл. 3. Во всех выбранных для анализа образцах майонеза бензойной кислоты обнаружено не было.

Таблица 3. Результаты определения сорбиновой кислоты в майонезах различных марок (n = 3, P = 0.95).

| Марка майонеза | Найдено, г/кг |
|-------------------------------|----------------------|
| Московский Провансаль постный | 3.5 ± 0.1 |
| Вкуснотека | 1.28 ± 0.07 |
| Каждый день (оливковый) | 1.19 ± 0.08 |
| Скит Провансаль | < 0.01 |

На рис. 12 представлена электрофореграмма образца майонеза “Московский провансаль постный”. Предел обнаружения ($C_{\text{мин}}$) составил 3 мг/кг для обоих консервантов. Предложенный способ определения сорбиновой и бензойной кислот в майонезе характеризуется простотой, экспрессностью (время анализа составляет 8 мин, пробоподготовка – 5 мин). Сходимость результатов измерений составляет от 5.8 до 2.3%, внутрилабораторная прецизионность от 7.5 до 5.7%.

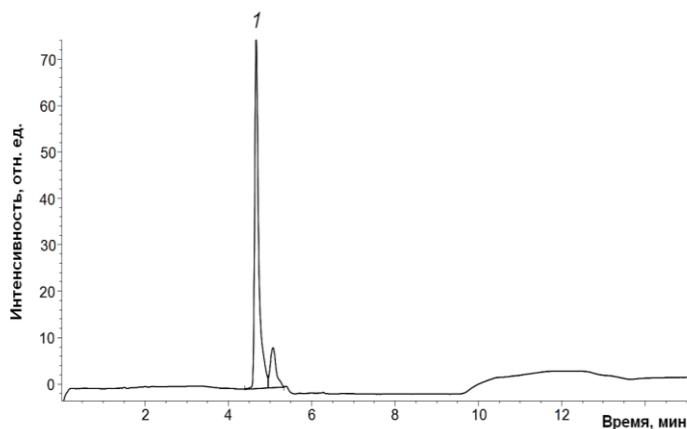


Рис. 12. Электрофореграмма 0.1 г образца майонеза “Московский Провансаль постный” в 1 мл В/М микроэмульсии. 1 – сорбиновая кислота. Ввод пробы 50 мбар/ 10 сек. Условия разделения: кварцевый капилляр общей длиной 33.5 см (эффективной длиной 25 см) и диаметром 50 мкм, температура 25 °С, детектирование при 254 нм. Остальные условия указаны в подписи к рис. 4.

2) Определение Д-пантенола в образце мази

Оценка степени извлечения веществ В/М микроэмульсиями в сравнении с другими экстрагентами проведена на примере определения лекарственного препарата Д-пантенола в мази для наружного применения (5%). Сложность данного реального объекта заключается в том, что основной компонент является гидрофильным в отличие от водонерастворимой матрицы образца на основе ланолина и парафина. Степень извлечения Д-пантенола из образца мази рассчитывали в соответствии с аттестованным значением (5 мас.%), полученные результаты представлены в табл. 4.

Таблица 4. Зависимость степени извлечения Д-пантенола из образца мази для наружного применения (5%) от типа экстрагента. Масса навески мази 0.02 г, объем экстрагента 1 мл (n = 3, P = 0.95).

| Тип экстрагента | Степень извлечения Д-пантенола, % |
|-------------------|-----------------------------------|
| Вода | 32 ± 3 |
| Метанол | 29 ± 2 |
| Бутанол-1 | 74 ± 3 |
| М/В микроэмульсия | 16 ± 1 |
| В/М микроэмульсия | 100 ± 2 |

Навеска мази на липофильной основе полностью растворилась только в случае использования в качестве экстрагентов бутанола-1 и В/М микроэмульсии, однако количественного извлечения основного компонента удалось достичь только в варианте с В/М микроэмульсией.

Таким образом, продемонстрированы преимущества использования В/М микроэмульсий в качестве экстрагентов в пробоподготовке. Дифильное строение такого рода микроэмульсий, обуславливающее их уникальную солубилизирующую способность, делает их пригодным для количественного извлечения веществ различной природы из объектов со сложной матрицей, что позволяет в значительной степени упростить процедуру пробоподготовки.

Использование В/М и М/В микроэмульсий в роли реакционных сред

Шестая глава посвящена использованию В/М и М/В микроэмульсий в качестве реакционных сред на примере проведения реакции дериватизации антибиотиков. Уникальное дифильное строение как прямых, так и обратных микроэмульсий позволяет использовать эти фазы как микрореакторы, роль которых могут выполнять капли масла или воды, соответственно.

1) Концентрирование с последующей дериватизацией в капилляре при определении антибиотиков методом М/В МЭЭКХ

В связи с собственным низким коэффициентом молярного поглощения зачастую проводят дериватизацию антибиотиков для увеличения чувствительности их последующего определения. В качестве реагента был выбран 2,3-нафталиндиальдегид (НДА), широко используемый для дериватизации веществ, содержащих первичную аминогруппу. На примере ампициллина (АМП) установлено, что его дериватизация значительно ускоряется в среде М/В микроэмульсии в сравнении со стандартной водно-органической реакционной средой (более, чем в 3800 раз) и не требует дополнительного нагревания, что делает возможным проведение этой реакции в режиме он-лайн.

Внутрикапиллярная дериватизация ампициллина и амоксициллина (АМО) с НДА может быть проведена путем последовательного гидродинамического ввода раствора НДА и смеси антибиотиков с последующим приложением напряжения, как показано на рис. 13. НДА следует вводить в капилляр перед зоной пробы антибиотиков, в противном случае реакция не протекает.

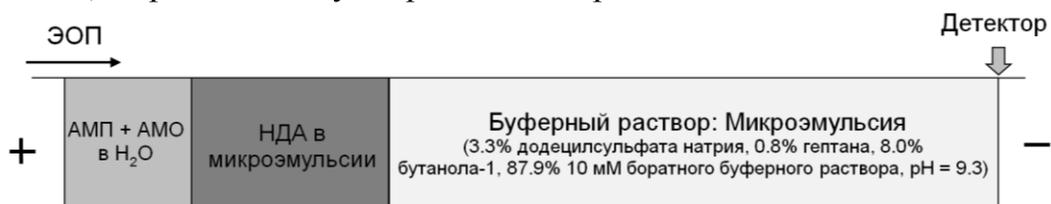


Рис. 13. Схема он-лайн дериватизации антибиотиков с НДА в капилляре.

Изучено влияние на степень протекания он-лайн дериватизации различных параметров, таких как температура, время смешения реагирующих зон и время реакции, концентрация и длина зоны НДА. В качестве оптимальных были выбраны следующие условия: последовательный ввод при 25 мбар раствора НДА в течение 20 сек и раствора антибиотиков в течение 10 сек, смешивание реагирующих зон при +20 кВ в течение 12 сек, затем проведение он-лайн дериватизации при +1 кВ в течение 10 мин. В этих условиях степень протекания реакции составила 100% для обоих антибиотиков.

Для значительного улучшения чувствительности определения АМП и АМО методом М/В МЭЭКХ с внутрикапиллярной дериватизацией предложено сочетание этого подхода с предварительным он-лайн концентрированием аналитов – стэкингом с

большим объемом вводимой пробы и обращением полярности. Вначале раствор антибиотиков гидродинамически вводят при 940 мбар в течение 60 сек. Затем небольшую зону раствора НДА в М/В микроэмульсии вводят с выходного конца капилляра (-25 мбар / 10 сек), после раствор НДА сменяют на фоновый электролит (М/В микроэмульсию) и прикладывают напряжение -10 кВ (в режиме обращения полярности). При достижении 95% тока окончания процесса подачу напряжения прекращают. После стэкинга полярность электродов переключают на положительную для проведения стадии он-лайн дериватизации и последующего разделения продуктов реакции. На рис. 14 представлена электрофореграмма смеси АМП и АМО, полученная в оптимальных условиях.

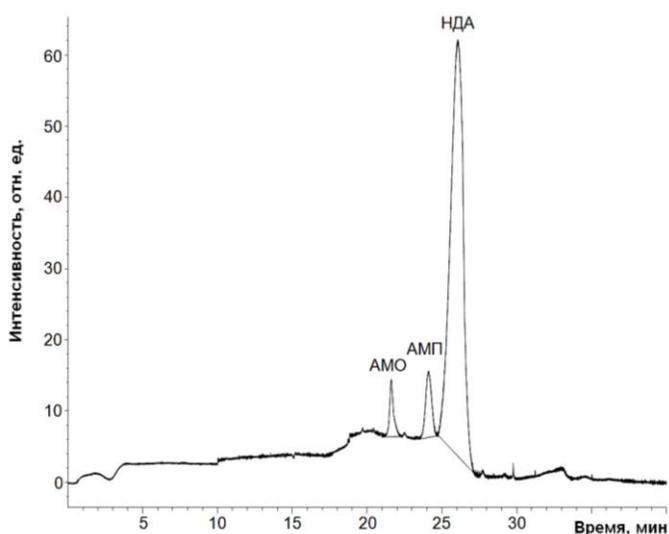


Рис. 14. Электрофореграмма продуктов дериватизации АМП и АМО ($C = 500$ мкг/л) с избытком НДА. Ввод пробы: гидродинамический ввод раствора антибиотиков (940 мбар / 60 сек), ввод зоны НДА с конца капилляра (-25 мбар/10 сек), затем приложение -10 кВ (в режиме обращения полярности) до достижения 95% тока окончания процесса. Условия разделения: кварцевый капилляр общей длиной 64.5 см (эффективной длиной 56 см) и диаметром 50 мкм; температура 40 °С, детектирование при 230 нм. Во время анализа применяли градиент напряжения.

Сочетание стэкинга с большим объемом пробы и обращением полярности с последующей он-лайн дериватизацией позволило добиться снижения пределов обнаружения более чем в 300 раз для обоих антибиотиков по сравнению со стандартным вариантом их определения методом капиллярного электрофореза. Метрологические характеристики разработанного подхода представлены в табл. 5.

Таблица 5. Метрологические характеристики определения антибиотиков методом М/В МЭЭКХ в сочетании со стэкингом с большим объемом пробы и обращением полярности и он-лайн дериватизацией.

| Аналит | Линейный диапазон градуировочного графика (мкг/л) | Уравнение градуировочной зависимости | R | $s_r, \% (n=4, P=0.95)$ | $C_{мин},$ мкг/л |
|--------|---|--------------------------------------|------|-------------------------|------------------|
| АМП | 50-1000 | $y = 1.147x + 2.442$ | 0.99 | 8.4 | 20 |
| АМО | 50-1000 | $y = 1.097x + 2.258$ | 0.99 | 6.7 | 20 |

Применимость разработанного подхода по определению антибиотиков продемонстрирована на примере определения исследуемых антибиотиков в моче.

2) Концентрирование с последующей дериватизацией в капилляре при определении антибиотиков методом В/М МЭЭКХ

В работе изучена возможность проведения он-лайн дериватизации ампициллина с НДА в среде В/М микроэмульсии с последующим определением продуктов реакции методом В/М МЭЭКХ. Проведение дериватизации в режиме офф-лайн при использовании четырехкратного избытка НДА в В/М микроэмульсии показало, что реакция полностью протекает менее чем за 1 мин уже при комнатной температуре, что делает возможным проведение этой реакции в капилляре.

При проведении он-лайн реакции зону НДА необходимо вводить перед зоной пробы антибиотика, в противном случае реакция не протекает. Использование градиента напряжения во время анализа не требуется, реакция полностью протекает при быстрой миграции АМП через зону НДА, таким образом, в среде В/М микроэмульсии реакция, вероятно, протекает за несколько секунд.

Для дополнительного улучшения чувствительности определения АМП методом В/М МЭЭКХ изучена возможность сочетания этого метода с одним из наиболее эффективных вариантов он-лайн концентрирования заряженных аналитов – электростэкинг. После промывки капилляра раствором В/М микроэмульсии на первой стадии гидродинамически вводят зону НДА (20 мбар / 10 сек), затем зону деионизованной воды (10 мбар / 30 сек). После этого входной конец капилляра помещают в водный раствор АМП и прикладывают напряжение в режиме отрицательной полярности (-4 кВ / 300 сек). В этих условиях ампициллин, находящийся в анионной форме, мигрирует в направлении анода и концентрируется на границе раздела фаз зоны дериватирующего агента и раствора антибиотика.

Помимо электростэкинга и он-лайн дериватизации АМП с НДА предложено также использование капилляра с увеличенной длиной оптического пути – «Z-ячейкой». Сочетание всех рассмотренных вариантов улучшения чувствительности позволяет снизить предел обнаружения ампициллина в 10^4 раз, $C_{\text{мин}} = 0.6$ мкг/л.

3) Он-лайн дериватизация гексаметилендиамина в среде В/М микроэмульсии

Применение микроэмульсий типа «вода в масле» в качестве уникальных реакционных сред продемонстрировано на примере реакции дериватизации гексаметилендиамина (ГМДА) с флуоренилметилоксикарбонил хлоридом (ФМОК). При растворении ФМОК в В/М микроэмульсии его гидролиз не происходит, раствор стабилен в течение нескольких часов. Проведение реакции ГМДА с ФМОК в микроэмульсии состава 5% ДДСН, 80% бутанола-1, 15% 70 мМ фосфатного буферного раствора (рН 7.0) показало, что реакция полностью протекает за 2 мин, при этом не требуется дополнительного нагревания.

Он-лайн реакцию осуществляли путем последовательного гидродинамического ввода зоны ФМОК, растворенного в В/М микроэмульсии, и ГМДА. Дериватизацию

проводили с использованием градиента напряжения: -2 кВ в течение 3 мин, затем -30 кВ для разделения продуктов реакции (в режиме обращения полярности). В этих условиях достигался количественный выход продукта реакции, электрофореграмма представлена на рис. 15. Дериватизация с ФМОК позволяет определять ГМДА на уровне концентраций $C_{\text{мин}} = 3$ мг/л.

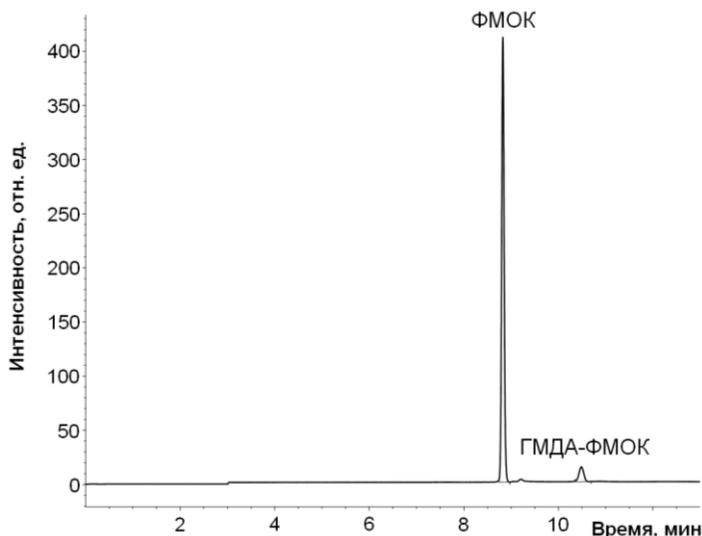


Рис. 15. Электрофореграмма продукта дериватизации ГМДА ($C = 200$ мкг/л в воде) с избытком ФМОК ($C = 2000$ мг/л в В/М микроэмульсии). Условия дериватизации: ввод зоны ФМОК (10 мбар/ 10 сек), затем ГМДА (25 мбар/ 10 сек); проведение реакции при -3 кВ в течение 3 мин, затем разделение веществ при -30 кВ. Условия разделения: кварцевый капилляр общей длиной 33.5 см (эффективной длиной 25 см) и диаметром 50 мкм, температура 30 °С, детектирование при 210 нм.

Таким образом, показано, что В/М микроэмульсии перспективны в качестве реакционных сред для проведения дериватизации органических веществ.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что в отличие от варианта М/В МЭЭКХ метод В/М МЭЭКХ непригоден для разделения нейтральных гидрофобных веществ одного гомологического ряда, однако он может быть применим для определения полярных веществ. Продемонстрирована возможность разделения неорганических анионов методом В/М МЭЭКХ. Изучено влияние состава В/М микроэмульсий, используемых в качестве фоновых электролитов, на селективность и эффективность разделения анионов.
2. Сравнены электрофоретические подвижности анионов в различных вариантах капиллярного электрофореза. Показано, что порядок миграции аналитов значительно различается для методов МЭЭКХ с использованием микроэмульсий типа «вода в масле» и «масло в воде». Установлено, что скорость миграции неорганических анионов в В/М МЭЭКХ на порядок меньше по сравнению с методами КЗЭ и М/В МЭЭКХ.
3. Продемонстрирована возможность сочетания различных вариантов он-лайн концентрирования с В/М МЭЭКХ. Стэкинг с усилением поля позволяет снизить пределы обнаружения анионов в 10-15 раз, электростэкинг – до 10^3 раз. Предложен

новый вариант концентрирования полярных веществ неионогенной природы – свипинг в методе В/М МЭЭКХ.

4. Отмечено значительное ускорение реакций в микроэмульсионной среде на примере дериватизации антибиотиков пенициллинового ряда и гексаметилендиамина. Показана возможность проведения реакции антибиотиков с НДА в режиме он-лайн в среде М/В и В/М микроэмульсий, подобраны условия, позволяющие достичь количественного выхода продуктов реакции. Продемонстрирована возможность сочетания концентрирования определяемых компонентов (стэкинг с большим объемом пробы и переключением полярности или электростэкинг) с их последующей дериватизацией в капилляре. Рассчитаны метрологические характеристики предложенного способа определения ампициллина и амоксициллина. Сочетание рассмотренных подходов позволяет снизить пределы обнаружения антибиотиков в 10^4 раз и достичь пределов обнаружения порядка 0.6 мкг/л.
5. На примере анализа майонеза продемонстрировано значительное упрощение процедуры экстракции сорбиновой и бензойной кислот из объектов с высоким содержанием жира при использовании В/М микроэмульсий в качестве экстрагентов. Время пробоподготовки удалось уменьшить с 2 часов до 2 минут при количественном извлечении веществ.
6. Практическое применение электростэкинга в сочетании с В/М МЭЭКХ показано на примере определения йодид-иона в продуктах питания (куриных яйцах, морской капусте). Пределы обнаружения йодида составили 7 мкг/кг куриного яйца и 9 мкг/кг свежей морской капусты, соответственно.

Основные результаты работы изложены в следующих публикациях:

1. *A.A. Kostromskikh¹, A.V. Pirogov, L.S. Sokolova, O.A. Shpigun.* Sample stacking and on-line derivatization for the analysis of ampicillin and amoxicillin by microemulsion electrokinetic chromatography // *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies.* 2015. V. 38. № 6. P. 670-676.
2. *A. Kostromskikh, A. Pirogov, L. Sokolova, O. Shpigun.* Sample stacking coupled with water-in-oil microemulsion electrokinetic chromatography for the analysis of inorganic anions // *Current Chromatography.* 2015. V. 2. № 1. P. 32-40.
3. *А.А. Дербина, А.В. Пирогов, И.Д. Каргин, М.В. Попик, О.А. Шпигун.* Определение йодид-иона в морской капусте методом микроэмульсионной электрокинетической хроматографии с применением микроэмульсий типа «вода

¹ Автор сменила фамилию с Костромских на Дербина в 2014 г.

в масле» и электростэкинга // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2015. Т. 81. № 6. С. 5-9.

4. А.А. Дербина, *А.В. Пирогов*, *И.Д. Каргин*, *О.А. Шпигун*. Применение микроэмульсий типа «вода в масле» в микроэмульсионной электрокинетической хроматографии и в качестве экстрагентов для извлечения полярных веществ // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70. № 10. С. 1102-1108.
5. А.А. Костромских, *Л.С. Соколова*, *А.В. Пирогов*. Концентрирование с последующей дериватизацией в капилляре при определении ампициллина методом микроэмульсионной электрокинетической хроматографии // II Всероссийская конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез», Краснодар, Россия, 26-31 мая 2013 г. С. 67.
6. А.А. Kostromskikh, *A.V. Pirogov*, *L.S. Sokolova*, *O.A. Shpigun*. Sample stacking and on-line derivatization for the analysis of ampicillin and amoxicillin by microemulsion electrokinetic chromatography // 19th International Symposium on Separation Sciences «New Achievements in Chromatography», Poreč, Croatia, 25-28 September 2013. P. 53.
7. *A.V. Pirogov*, А.А. Kostromskikh, *L.S. Sokolova*, *O.A. Shpigun*. Sample stacking and on-line derivatization for the analysis of ampicillin and amoxicillin by microemulsion electrokinetic chromatography // 40th International Symposium on the High Performance Liquid Phase Separations and the Related Techniques, Hobart, Tasmania, Australia, 18-21 November 2013. P. 98.
8. А. Kostromskikh, *A. Pirogov*, *O. Shpigun*. Sample stacking coupled with water-in-oil microemulsion electrokinetic chromatography for the analysis of inorganic anions // 30th International Symposium on Chromatography «Communicating Separation Science for the Future», Salzburg, Austria, 14-18 September 2014. Poster 170. P. 76.
9. А. Derbina, *I. Kargin*, *A. Pirogov*, *O. Shpigun*, *D.S. Chung*. The determination of hexamethylene diamine by water-in-oil microemulsion electrokinetic chromatography after on-line derivatization with FMOC // 18th edition of Euroanalysis, the European Conference on Analytical Chemistry, Bordeaux, France, 6-10 September 2015. Poster 475. P. 78.
10. *O. Shpigun*, А. Derbina, *I. Kargin*, *A. Pirogov*. The use of water-in-oil microemulsions in microemulsion electrokinetic chromatography and as extragents for the sample pretreatment // 18th edition of Euroanalysis, the European Conference on Analytical Chemistry, Bordeaux, France, 6-10 September 2015. Poster 494. P. 80.