

На правах рукописи

Родионов Алексей Александрович

**Определение состава смесей среднелетучих органических соединений в
водном конденсате выдыхаемого воздуха человека методом ГХ/МС**

02 00 02 — Аналитическая химия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата
химических наук



Москва — 2008

Работа выполнена на кафедре аналитической химии химического факультета
Московского государственного университета имени М В Ломоносова

Научный руководитель доктор химических наук, профессор Ревельский
Игорь Александрович

Официальные оппоненты

доктор химических наук, профессор Рыбальченко Игорь Владимирович, ФГУ
«27 научный центр МО РФ», г Москва

доктор химических наук Буряк Алексей Константинович, Институт
физической химии и электрохимии им А Н Фрумкина РАН, г Москва

Ведущая организация

ОАО НПО «Химвтоматика» НТЦ «Хроматография»

Защита состоится 14 мая 2008 года в 15 часов 00 минут на заседании
диссертационного совета Д 501 001 88 по химическим наукам в Московском
государственном университете имени М В Ломоносова по адресу 119992,
Москва, Ленинские горы, д 1, стр 3, МГУ им М В Ломоносова, химический
факультет

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке химического факультета
МГУ имени М В Ломоносова.

Автореферат разослан апреля 2008 года

Ученый секретарь
диссертационного совета, к х н



Тороченникова И И

Общая характеристика работы

Актуальность темы Исследованию химического состава выдыхаемого воздуха с целью изучения возможности диагностики различных легочных заболеваний посвящено большое число работ. Это связано с тем, что применяемые в медицине инструментальные методы диагностики не обеспечивают высокой степени достоверности на ранних стадиях заболеваний, что приводит к неправильному лечению и связанным с ним негативным последствиям. Подавляющее большинство публикаций по выдыхаемому воздуху посвящено исследованию состава газообразных, легколетучих и, в меньшей степени, среднелетучих органических соединений, которые концентрируют с использованием адсорбции и, реже, абсорбции с последующим анализом малой части абсорбата. Наиболее эффективный метод анализа, используемый в данной области, основан на газохроматографическом разделении в комбинации с различными методами детектирования. Масс-спектрометрическое детектирование позволяет производить одновременное определение веществ разных классов. Однако результаты анализа газообразной части выдыхаемого воздуха неадекватно отражают состав смеси выдыхаемых эндогенных соединений в связи с тем, что многие летучие и среднелетучие соединения могут поступать в легкие из окружающей среды.

Отдельно выделяют такой объект, как водный конденсат выдыхаемого воздуха (КВВ), получаемый путем охлаждения выдыхаемого воздуха до температуры -10°C . В настоящее время существует множество (сотни) публикаций по анализу КВВ. В подавляющем большинстве из них речь идет об определении нелетучих органических соединений различными методами. В литературе известны лишь единичные публикации по исследованию состава среднелетучих примесей в КВВ. Концентрации присутствующих в КВВ летучих и среднелетучих органических соединений очень низкие ($10^{-7}\%$ по массе и ниже), и состав их практически неизвестен.

Изучение состава смеси этих примесей в КВВ представляет несомненный интерес в связи с возможностью использования полученных данных в целях диагностики легочных заболеваний. Анализ среднелетучих примесей, сконцентрированных в КВВ, может лучше отражать состав выдыхаемых

органических соединений, по сравнению с анализом адсорбата или абсорбата выдыхаемого воздуха. Продукты жизнедеятельности организма попадают из различных органов в кровь, из крови в межклеточную жидкость легких, а оттуда на поверхность слизистой и в аэрозоль, который затем собирают в конденсоре. Для исследования состава смесей соединений, содержащихся в КВВ, актуальна разработка способа их одновременного определения на ультраследовом уровне, так как существующие способы не обеспечивают такой возможности.

В связи с этим, целью настоящей работы являлась разработка способа определения среднетлетучих органических соединений различной полярности на ультраследовом уровне в КВВ методом ГХ/МС и изучение состава смесей зарегистрированных этим способом соединений, выделенных из образцов КВВ, собранных у здоровых, больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) людей.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи

- изучить литературные данные о составе смесей среднетлетучих органических соединений в выдыхаемом воздухе и КВВ и составить на основе этих данных модельные смеси,
- выбрать оптимальные условия хроматографического разделения модельных смесей среднетлетучих органических соединений, которые могут присутствовать в выдыхаемом воздухе, согласно литературным данным,
- изучить масс-спектры электронной и химической ионизации ряда выбранных модельных соединений и определить пределы детектирования в обоих режимах ионизации,
- разработать способ сорбционного концентрирования с одновременным удалением растворителя из больших проб органических растворов модельных среднетлетучих органических соединений различной полярности и перевода всего концентрата аналитов в хромато-масс-спектрометр,
- изучить жидкостную экстракцию модельных соединений различной полярности из водных растворов с использованием высаливания при их содержании в растворе на уровне 10^{-8} – $10^{-6}\%$,
- разработать способ определения ультрамалых содержаний среднетлетучих органических соединений различной полярности в водных растворах,

основанный на жидкостной экстракции с предварительным высаливанием, удалении растворителя в присутствии сорбента из пробы экстракта и ГХ/МС анализе всего концентрата, и использовать его для изучения состава смесей среднетлетучих примесей в КВВ,

- с использованием разработанного способа анализа водных растворов провести анализ 3-х серий образцов КВВ, собранных у здоровых, больных ХОБЛ и больных бронхиальной астмой (не менее 10-ти образцов в каждой серии),
- сравнить результаты анализа 3-х серий образцов КВВ с целью выявления возможности использования разработанного способа анализа КВВ и полученных данных для диагностики легочных заболеваний

Научная новизна работы

Исследовано сорбционное концентрирование из органических растворов ультраследовых количеств модельных среднетлетучих соединений различной полярности с удалением растворителя в процессе концентрирования вне аналитической системы и перевод концентрата термодесорбцией в хромато-масс-спектрометр

Разработан способ определения среднетлетучих органических соединений различной полярности в органических растворах, основанный на удалении растворителя из пробы большого объема (100 мкл) раствора в присутствии сорбента, термодесорбции концентрата и его ГХ/МС анализе. Пределы обнаружения — 10^{-8} – $10^{-6}\%$

Изучена жидкостная экстракция ультрамалых количеств модельных соединений с предварительным высаливанием из водных растворов

Разработан способ определения среднетлетучих органических соединений различной полярности в водных растворах, основанный на жидкостной экстракции с предварительным высаливанием, отборе пробы экстракта и ее концентрировании с удалением органического растворителя вне аналитической системы в присутствии сорбента, термодесорбции и ГХ/МС анализе концентрата анализируемой пробы. Пределы обнаружения составили величины порядка 5×10^{-9} – $5 \times 10^{-7}\%$

С использованием разработанного способа анализа водных растворов изучен состав смесей среднетлетучих органических соединений, присутствующих в образцах КВВ здоровых людей, больных бронхиальной астмой и ХОБЛ, и обнаружено

присутствие в КВВ большого числа органических соединений, относящихся к различным классам, содержащихся на уровне 10^{-8} – $10^{-6}\%$, из которых идентифицировано 33 соединения

Проведено сопоставление результатов анализа для трех групп образцов КВВ (собранных у 30-ти здоровых людей, 20-ти больных бронхиальной астмой и 20-ти больных ХОБЛ) по 40-ка обнаруженным компонентам С использованием алгоритма, основанного на линейных методах теории распознавания образов, показано, что здоровых и больных бронхиальной астмой, можно различить с надёжностью 75%, здоровых и больных ХОБЛ — с надёжностью 85%, больных бронхиальной астмой и ХОБЛ — с надёжностью 83%

Выявлена группа веществ, которые могут рассматриваться как потенциальные маркеры бронхиальной астмы и ХОБЛ

Практическая значимость работы

Разработанные способы определения среднетлетучих органических соединений различной полярности в органических и водных растворах нашли применение при изучении состава проб КВВ здоровых, больных бронхиальной астмой и больных ХОБЛ

В результате их применения показана возможность дифференциации здоровых, больных бронхиальной астмой и больных ХОБЛ с высокой достоверностью. Разработанные способы могут найти применение при изучении возможности неинвазивной диагностики заболеваний путем исследования состава КВВ

На защиту выносятся

Способ определения ультраследовых содержаний среднетлетучих органических соединений различной полярности в органических растворах, основанный на сорбционном концентрировании аналитов с удалением растворителя в процессе концентрирования вне аналитической системы, термодесорбции и ГХ/МС анализе концентрата

Способ определения ультраследовых содержаний среднетлетучих органических соединений различной полярности в водных растворах и конденсате выдыхаемого воздуха, основанный на жидкостной экстракции с высаливанием, сорбционном концентрировании аналитов из экстракта с удалением растворителя в

процессе концентрирования вне аналитической системы, термодесорбции и ГХ/МС анализе концентрата

Перечень среднетлетучих органических веществ, обнаруженных в образцах КВВ с использованием разработанного способа

Результаты определения состава смесей среднетлетучих органических соединений, обнаруженных в 70-ти образцах КВВ (30 – для здоровых, 20 – для больных бронхиальной астмой и 20 – для больных ХОБЛ)

Результаты сравнения состава образцов КВВ, собранных у здоровых, больных ХОБЛ и больных бронхиальной астмой, показывающие возможность различия между собой здоровых, больных астмой и больных ХОБЛ

Группа обнаруженных в КВВ веществ, которые можно рассматривать как потенциальные маркеры заболеваний ХОБЛ и бронхиальной астмы

Апробация работы

Основные результаты работы были представлены на всероссийском симпозиуме «Хроматография в химическом анализе и физико-химических исследованиях» (23-27 апреля 2007 г, Москва) и на всероссийской конференции с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы» (12-16 сентября 2005 г, Москва)

Публикации

Результаты работы представлены в 5 публикациях (2 статьи и 3 тезиса докладов)

Структура и объем работы

Диссертация состоит из введения, в котором отражены цель и основные задачи, актуальность, научная новизна, практическая значимость и апробация работы, пяти глав, заключения, выводов, списка литературы и трех приложений

В первой главе приведен обзор литературы по анализу выдыхаемого воздуха и КВВ. Также там есть раздел, посвященный методам ввода больших проб органических растворов в капиллярный газовый хроматограф

Во второй главе представлен список использованных в работе веществ и материалов, а также оборудования. Описана методика эксперимента. В третьей, четвертой и пятой главах последовательно описаны результаты проведенных экспериментов по разработке способа определения среднетлетучих органических соединений различной полярности в органических, водных растворах и КВВ методом

ГХ/МС с предварительным сорбционным концентрированием пробы органического раствора либо жидкостного экстракта объемом 100 мкл с удалением растворителя вне аналитической системы и вводом концентрата путем термодесорбции в хромато-масс-спектрометр, определению среднелетучих органических соединений в КВВ с использованием разработанного способа, изучению состава образцов КВВ трех серий (здоровых людей, больных ХОБЛ, больных бронхиальной астмой) со сравнением полученных результатов

В приложении 1 приведен краткий список соединений, обнаруженных в выдыхаемом воздухе человека и относящихся к различным классам В приложении 2 приведены рисунки масс-спектров электронной ионизации модельных соединений, использованных в настоящей работе В приложении 3 — масс-спектры всех характеристичных соединений, обнаруженных во всех изученных образцах КВВ

Материал диссертации изложен на 158 страницах, содержит 88 рисунков и 25 таблиц Список литературных источников состоит из 108 наименований

Основное содержание работы

Оборудование, исходные вещества, методика эксперимента

Оборудование

В работе было использовано перечисленное ниже оборудование

- Установка для сбора конденсата выдыхаемого воздуха ECoScreen (производитель Erich Jaeger)
- Хроматограф Trace GC ultra (Thermo Electron corp)
- Масс-спектрометр Trace DSQ (Thermo Electron corp)
- Микрошприц на 10 мкл (SGE Ltd)
- Среднеполярная капиллярная колонка RTX-200MS (Restek corp) неподвижная фаза — трифторпропилметилполисилоксан, толщина пленки неподвижной фазы — 0,25 мкм, диаметр колонки — 0,32 мм, длина — 30 м
- Самодельное устройство для охлаждения участка капиллярной хроматографической колонки длиной 6 см (элемент Пельтье), обеспечивающее охлаждение до -20°C

- Устройство для сорбционного концентрирования самодельное Устройство состоит из стального картриджа, внутри которого помещен кварцевый вкладыш с сорбентом В качестве сорбента была использована комбинация из сверхтонкого кварцевого волокна (СКВ) и сорбента Телух GC Концентрирование осуществляли в потоке газа (азота, 5-100 мл/мин) при подаче в него пробы органического раствора шприцевым дозатором со скоростью 5-25 мкл/мин Во время ввода пробы в инжектор хроматографа картридж соединяли с инжектором посредством иглы Перенос концентрата осуществляли в потоке гелия (1-5 мл/мин) при нагреве картриджа потоком горячего воздуха

Исходные вещества и материалы

В данной работе были использованы следующие аналитические стандарты для газовой хроматографии производства SIGMA-ALDRICH деканол-1, ундеканол-1, додеканол-1, тетрадеканол-1, додекановая кислота, тетрадекановая кислота, гексадекановая кислота, додекан, докозан, п-цимен, дифенилметан, нафталин, гептанон-2, гептанон-4, 5-метилгексанон-2, 5-метилгептанон-3, 2,6-диметилгептанон-4, нонанон-2, додеканон-2, октаналь, нонаналь, деканаль, ундеканаль, додеканаль Данные вещества были использованы при составлении модельных смесей

В данной работе было использовано 2 типа растворов модельных смесей 17-ти и 24-х компонентные Отличие в составе модельных смесей заключается в наличии в 24-х компонентной последних 7 стандартов, указанных в списке Исходные модельные растворы готовили в ацетоне, рабочие растворы в МТБЭ получали последовательным разбавлением исходных Концентрации веществ в исходных модельных смесях составляли от $9,5 \times 10^{10}$ до $7,7 \times 10^8$ г/мкл и от $5,1 \times 10^{-9}$ до $9,2 \times 10^8$ г/мкл, соответственно Для решения различных задач использовали модельные смеси, полученные разбавлением исходных в 10, 100 и 1000 раз Для изучения условий определения карбонильных соединений в режиме химической ионизации с регистрацией положительных ионов были приготовлены две серии модельных растворов кетонов в ацетоне С той же целью была приготовлена серия растворов модельной смеси альдегидов Приготовление растворов производили путем последовательных разбавлений, в качестве растворителя был использован МТБЭ Для

установления степеней извлечения модельных соединений при жидкость-жидкостной экстракции из водных растворов метилтретбутиловым эфиром с предварительным высаливанием были приготовлены водные растворы модельных смесей (диапазон концентраций 3×10^{-9} - 1×10^{-7} г/мл)

Для приготовления растворов модельных смесей использовали ацетон и МТБЭ марки «для ВЭЖХ»

В качестве газа-носителя использовали гелий (марки А) В процессе сорбционного концентрирования использовали азот (ОСЧ, 99,995%) Для химической ионизации использовали газ-реагент изобутан (95%)

Методика проведения эксперимента

Выбор условий хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования

Скорость потока газа-носителя меняли в пределах от 1 до 2 мл/мин Начальную температуру термостата хроматографа варьировали в районе 40-45°C, время начальной изотермы — 3-5 мин Скорость нагрева термостата хроматографа меняли в пределах от 5 до 50°C, разделив температурную программу на 2 участка в точке 200°C Конечную температуру термостата меняли в пределах — 250-300°C Время конечной изотермы меняли от 1 до 5 мин Температуру инжектора хроматографа и температуру соединительной линии меняли вместе с конечной температурой термостата от 250 до 300°C

Масс-спектрометрическое детектирование осуществляли в режиме регистрации полного ионного тока Сканирование осуществляли в диапазоне значений m/z от 35 до 350 Температура источника ионов составляла 250°C энергия электронов — 70 эВ

Для определения кетонов и альдегидов использовали детектирование в режиме химической ионизации, наряду с электронной ионизацией Для этих целей использовали растворы модельных смесей альдегидов и кетонов, для которых подбирали условия хроматографического разделения Варьировали скорость нагрева термостата хроматографа от 5 до 40°C, количество участков с разными скоростями нагрева (до 3-х), объемную скорость газа-носителя — от 1 до 2 мл/мин При масс-

спектрометрическом детектировании поток газа-реагента (изобутан) меняли в пределах от 0,5 до 2,5 мл/мин Температуру источника ионов меняли в диапазоне от 120 до 150°C Энергия электронов, испускаемых термокатодом, составляла 80 эВ Сканирование проводили в диапазоне масс от 65 до 350 m/z Детектирование проводили в режимах сбора данных по полному ионному току (TIC) и селективного ионного мониторинга (SIM) по двум основным массам в масс-спектре каждого вещества

Эксперимент по изучению сорбции и термодесорбции модельных соединений

Первоначально проводили изучение влияния таких параметров, как температура десорбции, объемная скорость потока газа-носителя, температура колонки хроматографа, температура начального участка колонки длиной 6-см и продолжительность термодесорбции, на процесс переноса вещества с сорбента в инжектор газового хроматографа Температуру термодесорбции и объемную скорость потока газа-носителя варьировали совместно в диапазоне от 250 до 300°C и от 1 мл/мин до 5 мл/мин Гелий подавали в картридж с сорбентом за минуту до его соединения посредством иглы с инжектором хроматографа

Далее температуру варьировали в промежутке от 310 до 390°C с интервалом в 10°C Значения температуры термостата составляли 40, 37, 35°C Температуру начального участка колонки меняли в пределах от 10 до -20°C с интервалом 10°C Продолжительность термодесорбции — от 1 до 5 мин с интервалом 1 мин

Эксперимент по вводу больших проб

Сорбционное концентрирование модельных соединений из растворов (17-ти и 24-х компонентные модельные смеси) изучали с использованием в качестве сорбентов СКВ и Тепах GC в комбинации с СКВ, количества которых составляли 1,5-6 мг для Тепах GC и 0,5-2 мг для СКВ Сорбент располагался в кварцевом лайнере, через который пропускали поток газа (азота) Посредством шприцевого дозатора с постоянной скоростью подавали в лайнер анализируемый раствор Объемная скорость потока анализируемого раствора — 5-30 мкл/мин, объемная скорость потока газа — 5-100 мл/мин

Термодесорбцию осуществляли в условиях, выбранных в результате исследования сорбции/десорбции смесей модельных соединений

Исследование условий ГХ/МС определения следовых количества модельных соединений

Первоначально выбор условий газохроматографического разделения проводили для компонентов, входивших в состав 17-ти компонентной модельной смеси ($9,5 \times 10^{11} - 7,7 \times 10^9$ г/мкл) Варьировали скорость нагрева хроматографической колонки, а также значение конечной температуры нагрева колонки В результате были выбраны следующие условия хроматографического разделения, которые были оптимальными для 17-ти и 24-х компонентных смесей Температурная программа термостата изотерма при 40°C – 3 мин, нагрев до 200°C со скоростью $5^\circ\text{C}/\text{мин}$, нагрев до 250°C со скоростью $40^\circ\text{C}/\text{мин}$, изотерма при 250°C – 1 мин Температура инжектора хроматографа — 250°C , температура соединительной линии между хроматографом и масс-спектрометром — 250°C

Масс-спектрометрическое детектирование осуществляли в режиме регистрации полного ионного тока Сканирование осуществляли в диапазоне значений m/z от 35 до 350 ($1,54$ скан/с) Температура источника ионов составляла 250°C Энергия электронов — 70 эВ

Выбор оптимальных условий хроматографического разделения позволил изучить масс-спектры 24-х модельных соединений ($5,1 \times 10^{10} - 9,2 \times 10^9$ г/мкл) Для компонентов модельных смесей проведено сравнение экспериментальных масс-спектров с масс-спектрами из библиотеки масс-спектров NIST за 2005 год Сравнение масс-спектров производилось по двум параметрам совпадения, которые рассчитывает поисковая программа

Коэффициенты совпадения для всех изученных модельных соединений при прямом и обратном поиске находились в диапазоне от 830 до 960 в зависимости от соединения, что соответствует хорошему и отличному совпадению

Для определения пределов обнаружения последовательно проводили анализ модельных смесей, полученных разбавлением исходных в 1000, 100 и 10 раз (в МТБЭ) Каждый анализ повторяли 3 раза При переходе от смеси к смеси осуществляли холостой опыт (анализ чистого растворителя) Значения пределов обнаружения, рассчитанные по масс-хроматограммам, приведены в таблице 1

Таблица 1. Пределы обнаружения определяемых веществ (регистрацию масс-спектров проводили в режиме полного ионного тока, расчет проводили по масс-хроматограммам наиболее интенсивных ионов)

| Вещество | Предел обнаружения, г/мкл | m/z, наиболее интенсивного иона |
|------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| Деканол-1 | 8.5×10^{-11} | 70 |
| Ундеканол-1 | 7.6×10^{-12} | 83 |
| Додеканол-1 | 3.7×10^{-11} | 69 |
| Тетрадеканол-1 | 3.2×10^{-11} | 83 |
| Додекановая кислота | 6.0×10^{-10} | 157 |
| Тетрадекановая кислота | 5.5×10^{-10} | 73 |
| Гексадекановая кислота | 1.4×10^{-10} | 60 |
| Додекан | 1.6×10^{-11} | 57 |
| Докозан | 3.8×10^{-10} | 57 |
| п-Цимен | 7.2×10^{-11} | 119 |
| Дифенилметан | 7.0×10^{-11} | 168 |
| Нафталин | 1.1×10^{-11} | 128 |
| Гептанон-2 | 1.5×10^{-11} | 58 |
| Гептанон-4 | 1.0×10^{-11} | 71 |
| 5-Метилгексанон-2 | 5.9×10^{-12} | 58 |
| 5-Метилгептанон-3 | 1.3×10^{-11} | 99 |
| 2,6-Диметилгептанон-4 | 8.2×10^{-12} | 85 |
| Нонанон-2 | 2.2×10^{-11} | 58 |
| Додеканон-2 | 4.5×10^{-11} | 58 |
| Октаналь | 1.7×10^{-11} | 57 |
| Нонаналь | 2.5×10^{-11} | 57 |
| Деканаль | 1.1×10^{-10} | 57 |
| Ундеканаль | 2.8×10^{-10} | 57 |
| Додеканаль | 4.9×10^{-10} | 57 |

Как видно из таблицы 1, пределы обнаружения сильно различаются для веществ разных классов. Наименьшие значения пределов обнаружения у кетонов, наибольшие — у кислот.

Для определения пределов обнаружения при химической ионизации были выбраны условия, обеспечивающие максимальную концентрацию ионов газа-реагента в источнике ионов. Варьируемыми параметрами были поток газа-реагента и температура источника ионов. Поток изобутана меняли в пределах от 0,5 до 2,5 мл/мин, а температуру камеры ионизации — от 120 до 150°C.

Проведенные эксперименты показали, что оптимальными условиями являются следующие: температура источника ионов 120°C, поток изобутана (газа-реагента) в 0,7 мл/мин или 1,1 мл/мин. Энергия электронов — 80 эВ.

В этих условиях были получены масс-спектры исследуемых кетонов и альдегидов в режиме химической ионизации с регистрацией положительных ионов. Для всех исследуемых соединений в выбранных нами условиях химической ионизации характерно преимущественное образование протонированного иона $[M+H]^+$. Для кетонов с относительно большими концентрациями (10^{-8} г/мкл, в растворе) зафиксировано образование кластерных ионов $[2M+H]^+$. Для альдегидов характерно образование интенсивных ионов $[M+C_4H_9]^+$, т.е. аддуктов с ионами газа-реагента, во всем изученном диапазоне концентраций.

Данные по пределам обнаружения изученных карбонильных соединений в режиме химической ионизации с расходом газа-реагента (изобутана) равным 0,7 мл/мин, приведены в таблице 2.

Таблица 2. Пределы обнаружения исследуемых кетонов и альдегидов

| Соединение | Концентрация в смеси, г/мкл | Пределы обнаружения, г/мкл |
|------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Циклогексанон | $4,7 \times 10^{-11}$ | $2,9 \times 10^{-11}$ |
| 2,6-диметил-4-гептанон | $4,7 \times 10^{-11}$ | $6,6 \times 10^{-12}$ |
| 5-метил-3-гептанон | $3,3 \times 10^{-11}$ | $1,7 \times 10^{-11}$ |
| 2-гептанон | $3,3 \times 10^{-11}$ | $2,2 \times 10^{-11}$ |
| 5-метил-2-гексанон | $2,6 \times 10^{-11}$ | $1,4 \times 10^{-11}$ |
| 4-гептанон | $3,0 \times 10^{-11}$ | $1,6 \times 10^{-11}$ |
| Октаналь | $8,9 \times 10^{-12}$ | 6×10^{-12} |
| Нонаналь | $8,9 \times 10^{-12}$ | 6×10^{-12} |
| Деканаль | $9,2 \times 10^{-12}$ | 7×10^{-12} |
| Ундеканаль | $7,3 \times 10^{-11}$ | 7×10^{-12} |
| Додеканаль | $7,4 \times 10^{-11}$ | 7×10^{-12} |

* объем пробы 1 мкл

Пределы обнаружения при потоке газа-реагента, равном 0,7 мл/мин и 1,1 мл/мин, были примерно одинаковы.

Как видно из таблицы 2, пределы обнаружения альдегидов при масс-спектрометрическом детектировании в режиме химической ионизации в 2-3 раза меньше, чем пределы обнаружения кетонов.

Исследование возможности снижения пределов обнаружения исследуемых модельных соединений за счет ввода больших по объему проб off-line с предварительным удалением растворителя в присутствии сорбента вне аналитической системы

Первым этапом этого исследования был выбор сорбента, обеспечивающего сорбцию и термодесорбцию ультраследовых количеств модельных среднелетучих соединений различной полярности. Были изучены два варианта сорбция на СКВ (сверхтонкое кварцевое волокно) и на СКВ в комбинации с сорбентом Тепак GC. В обоих случаях проводилось сравнение результатов анализа модельной смеси (17 компонентов, от $9,5 \times 10^{-11}$ до $7,7 \times 10^{-9}$ г/мкл) при стандартном вводе 1 мкл раствора в инжектор и при нанесении 1 мкл того же раствора на сорбент с последующей термодесорбцией. Перенос пробы с сорбента в инжектор хроматографа проводили путем термодесорбции в потоке газа-носителя (2 мл/мин). Температура десорбции составляла 250°C, продолжительность — 5 мин. Температура термостата хроматографа при термодесорбции — 40°C.

При концентрировании сорбцией веществ на СКВ из 17 компонентов было обнаружено только 10. Потеря наиболее летучих компонентов модельной смеси обусловлена удалением вещества с сорбента потоком гелия, подаваемым в картридж перед присоединением его посредством иглы к инжектору.

В связи с этим было решено изучать сорбцию/десорбцию с комбинированного сорбента СКВ/Тепак GC. Количество используемого для этого СКВ составляло 1 мг, а количество сорбента Тепак GC — 2 мг.

Применение комбинированного сорбента СКВ/Тепак GC позволило успешно провести сорбцию/десорбцию всех 17 компонентов модельной смеси. Отношения средних значений аналитического сигнала (площадь пика на хроматограмме) компонентов модельной смеси в случае с термодесорбцией с комбинированного сорбента к соответствующим значениям аналитического сигнала в случае стандартного ввода 1 мкл, при одинаковом количестве определяемых веществ, находились в диапазоне от 54 до 100%.

Для того, чтобы повысить степень переноса веществ модельной смеси, а также повысить эффективность хроматографического разделения на начальном

участке хроматограммы, было проведено изучение влияния изменения условий термодесорбции на результаты анализа

Первоначально проводили изучение влияния таких параметров, как температура десорбции, объемная скорость потока газа-носителя, температура колонки хроматографа, температура начального участка колонки длиной 6-см и продолжительность термодесорбции, на процесс переноса вещества с сорбента в инжектор газового хроматографа

Изменение температуры термостата хроматографа во время термодесорбции с 40 до 35°C привело к заметному увеличению времен удерживания и некоторому уменьшению значений ширины пиков наиболее летучих веществ

Было изучено влияние охлаждения небольшого начального участка хроматографической колонки (6 см) в процессе термодесорбции на уменьшение ширины хроматографических пиков Температуры начального участка колонки, при которых проводили эксперимент, составляли 35°C (температура термостата хроматографа), 10°C, 0°C, -10°C и -20°C При этом фиксировали время удерживания и величину ширины пика у основания для пяти наиболее летучих компонентов модельной смеси, представляющих разные классы, т е отличающиеся по полярности (п-цимен, гептанон-4, 2,6-диметилгептанон-4, додекан, деканол) Показано, что охлаждение начального участка колонки оказывает различный эффект при концентрировании веществ разных классов Наличие же в некоторых случаях минимума значений ширины пиков при 10°C объясняется резким изменением свойств неподвижной фазы при переохлаждении колонки

Было проведено исследование зависимости величины аналитического сигнала от продолжительности термодесорбции при прочих постоянных параметрах, таких как температура картриджа (250 °C), скорость потока газа-носителя (2 мл/мин), температура инжектора (250 °C), температура колонки (35 °C) Продолжительность десорбции меняли от 1 до 5 мин Показано, что полнота десорбции достигается через 3-4 минуты после начала нагрева картриджа

Провели исследование зависимости ширины пиков определяемых компонентов модельных смесей от значений температуры десорбции и объемной скорости гелия Температуру варьировали в пределах от 250°C до 300°C, объемную скорость потока — от 1,1 мл/мин до 5 мл/мин В результате было установлено, что

значения ширины пиков у основания уменьшаются при увеличении температуры и уменьшении объемной скорости потока

Было изучено влияние изменения массы сорбента Tenax GC, с 2 до 6 мг, на полноту переноса веществ и хроматографическое разделение модельных веществ. С увеличением массы сорбента Tenax GC произошло увеличение значений аналитического сигнала модельных веществ, однако, при этом сильно возросли значения ширины пиков для большинства определяемых компонентов.

В результате проведенного эксперимента были выбраны оптимальные значения параметров десорбции веществ модельной смеси: Температура десорбции — 300°C, скорость потока газа-носителя — 1,2 мл/мин, продолжительность — 3 мин, температура колонки хроматографа — 35°C. Масса сорбента Tenax GC — 2 мг, масса СКВ — 1 мг.

Следующим этапом было изучение возможности ввода больших проб модельных растворов. Концентрирование проводили путем сорбции определяемых веществ с одновременным удалением растворителя в потоке парогазовой смеси, образующейся в результате одновременной подачи потоков газа и анализируемого раствора в картридж с сорбентом. Были определены площади пиков веществ модельной смеси при стандартном вводе 1 мкл раствора 24-х компонентной модельной смеси ($5,1 \times 10^{-10}$ – $9,2 \times 10^{-9}$ г/мкл) через инжектор S/SL, при вводе 1 мкл этой же смеси путем сорбции/десорбции и при вводе 100 мкл 24-х компонентной модельной смеси ($5,1 \times 10^{-12}$ – $9,2 \times 10^{-11}$ г/мкл) путем концентрирования аналитов с одновременным удалением растворителя и последующей термодесорбции концентрата.

Проведенные эксперименты показали, что для гептанона-2, гептанона-4, 5-метилгексанаона-3, 5-метилгептанона-3 и п-цимена отношение аналитического сигнала при вводе больших проб модельных растворов к аналитическому сигналу при вводе 1 мкл стандартным способом было менее 10% (при условии, что пробы содержат одинаковые количества компонентов). В дальнейшем было решено исключить данные соединения из рассмотрения (при изучении результатов ввода больших проб), так как разрабатываемый нами способ предназначен, прежде всего, для определения среднетлетучих органических соединений. Для остальных веществ данный показатель полноты переноса с сорбента в инжектор составил в среднем 60%.

Таким образом, в результате проведенных исследований был разработан способ ГХ/МС определения ультраследовых содержаний среднетлетучих органических соединений различной полярности в органических растворах, основанный на удалении растворителя из больших проб растворов в присутствии сорбента, термодесорбции и ГХ/МС анализе концентрата аналитов. Пределы обнаружения способа составляли 10^{-8} – $10^{-6}\%$

Следующим этапом нашего исследования являлось изучение возможности концентрирования модельных веществ из больших проб водных растворов

Были проведены эксперименты по экстракции веществ, входящих в состав модельных смесей (в диапазоне концентраций 3×10^{-9} - 1×10^{-7} г/мл), из водных растворов метилтретбутиловым эфиром с целью установить степени извлечения всех экстрагируемых соединений (Таблица 3). Соотношение водной и органической фаз при экстракции было 3/1. Высаливание проводили хлоридом натрия (0,1 от массы водной фазы).

Таблица 3 Степени извлечения веществ модельной смеси при жидкость-жидкостной экстракции, экспериментальные данные (n = 3, P = 0,95)

| Соединение | Степень извлечения при экстракции |
|------------------------|-----------------------------------|
| Деканол-1 | 41±3% |
| Ундеканол-1 | 33±2% |
| Додеканол-1 | 59±3% |
| Тетрадеканол-1 | 52±6% |
| Додекановая кислота | 43±3% |
| Тетрадекановая кислота | 40±2% |
| Гексадекановая кислота | 63±6% |
| Додекан | 100±8% |
| Докозан | 100±9% |
| Дифенилметан | 95±4% |
| Нафталин | 100±5% |
| 2,6-Диметилгептанон-4 | 81±4% |
| Нонанон-2 | 82±5% |
| Додеканон-2 | 100±8% |
| Октаналь | 83±5% |
| Нонаналь | 82±4% |
| Деканаль | 89±7% |
| Ундеканаль | 100±8% |
| Додеканаль | 90±5% |

Как видно из таблицы 3, степени извлечения в большинстве случаев превышали 80%. Степени извлечения наиболее полярных веществ составили 30-60%, что можно объяснить их растворимостью в воде.

Проведенные исследования по вводу больших проб органических растворов и по экстракции среднелетучих органических соединений различной полярности из водных растворов позволили перейти к изучению возможности анализа больших проб экстрактов из водных растворов

Таблица 4 Отношения значений аналитического сигнала компонентов модельной смеси в случаях с термодесорбцией (1 и 100 мкл модельного органического раствора и 100 мкл экстракта из водного раствора) с комбинированного сорбента (S_1) к соответствующим значениям аналитического сигнала в случае стандартного ввода 1 мкл (S_2) при одинаковом количестве определяемых веществ ($n = 3, P=0,95$)

| Соединение | Отношение S_1/S_2 , % | | |
|------------------------|-------------------------|--------------|----------|
| | 1 мкл | 100 мкл | |
| | | Орг. раствор | Экстракт |
| Деканол | 78±13% | 60±30% | 40±20% |
| Ундеканол | 79±4% | 70±20% | 40±15% |
| Додеканол | 79±5% | 61±17% | 50±30% |
| Тетрадеканол | 79±8% | 77±18% | 40±20% |
| Додекановая кислота | 56±7% | 62±15% | 30±20% |
| Тетрадекановая кислота | 62±19% | 73±9% | 40±20% |
| Гексадекановая кислота | 88±40% | 100±30% | 60±30% |
| Додекан | 75±6% | 22±10% | 30±10% |
| Докозан | 67±14% | 70±30% | 70±30% |
| Дифенилметан | 69±6% | 50±30% | 80±40% |
| Нафталин | 69±5% | 44±14% | 50±20% |
| 2,6-диметил-4-гептанон | 77±6% | 20±10% | 20±7% |
| Нонанон-2 | 74±4% | 40±11% | 70±20% |
| Додеканон-2 | 76±5% | 70±30% | 70±20% |
| Октаналь | 76±6% | 18±4% | 30±15% |
| Нонаналь | 74±5% | 37±9% | 50±20% |
| Деканаль | 75±5% | 57±17% | 60±20% |
| Ундеканаль | 87±6% | 80±30% | 80±30% |
| Додеканаль | 100±15% | 100±30% | 90±30% |

В таблице 4 представлены результаты ввода больших проб органических растворов и экстрактов из водных растворов. Из данных, приведенных в таблице, видно, что при использовании разработанного способа ввода больших проб происходит увеличение значений аналитического сигнала в 20 – 90 раз, по сравнению со стандартным вводом 1 мкл в инжектор S/SL. Наиболее эффективен данный способ для определения среднелетучих органических соединений. Пределы обнаружения

разработанного способа составляют 10^{10} - $10^8\%$ (по массе) в зависимости от определяемого вещества

Исследование состава среднелетучих примесей, присутствующих в образцах конденсата выдыхаемого воздуха

Было проведено предварительное исследование состава смесей среднелетучих органических веществ в двух образцах КВВ без предварительного концентрирования. Проводили жидкость-жидкостную экстракцию с последующим вводом 1 мкл экстракта. Затем проводили смыв с контейнера, в который собирали КВВ, тем же количеством МТБЭ, что использовали для экстракции. Хроматограммы экстракта и смыва снимали по 3 раза для каждого образца. Проведенные ГХ/МС анализы экстрактов и смывов с контейнеров показали отсутствие на хроматограммах каких-либо пиков, помимо пиков холостого опыта.

С целью определения неизвестных среднелетучих органических веществ в экстракте из КВВ был проведен анализ двух образцов КВВ с использованием разработанного способа анализа водных растворов (объем пробы 100 мкл). Параллельно с анализом экстракта КВВ проводили анализ образцов смыва растворителем (МТБЭ) с контейнера и чистого растворителя.

После сравнения хроматограмм экстрактов с хроматограммами растворителя было установлено, что в экстракте из КВВ содержится свыше 100 веществ, сигнал которых отсутствует в холостом опыте. Большинство из них не подлежало достоверной идентификации по масс-спектрам, ввиду малого содержания.

Всего по результатам опытов по анализу экстрактов из образцов КВВ было идентифицировано 33 индивидуальных соединения, еще 11 веществ характеризовались достаточно интенсивным сигналом, стабильным масс-спектром и временем удерживания, однако идентификация по библиотеке масс-спектров оказалась невозможной.

Таблица 5 Результаты прямого и обратного поиска при идентификации среднелетучих органических веществ по библиотеке масс-спектров

| Название вещества | Результаты сравнения с масс-спектрами из библиотеки NIST-2005 | |
|--|---|----------------|
| | Прямой поиск | Обратный поиск |
| Фенол | 906 | 912 |
| Гексановая кислота | 805 | 861 |
| Бензиловый спирт | 939 | 946 |
| Гептановая кислота | 766 | 825 |
| 2-этилгексановая кислота | 821 | 852 |
| Нонаналь | 671 | 815 |
| Ментол | 919 | 920 |
| Октановая кислота | 855 | 889 |
| Деканол-1 | 796 | 828 |
| Деканаль | 813 | 847 |
| 2-феноксизтанол | 905 | 927 |
| Хинолин | 682 | 876 |
| Нонановая кислота | 842 | 843 |
| Индол | 801 | 871 |
| Никотин | 821 | 854 |
| Декановая кислота | 779 | 806 |
| 2,3-дигидро-1-Н-инден-1-он | 574 | 805 |
| Бутоксизетоксиэтилацетат | 714 | 815 |
| Циклододекан | 898 | 913 |
| 3-гидрокси-2,4,4-триметилпентиловый эфир 2-метилпропановой кислоты | 665 | 739 |
| Ундекановая кислота | 774 | 770 |
| Додекановая кислота | 837 | 899 |
| Триацетин | 781 | 894 |
| Бензофенон | 792 | 892 |
| Тетрадекановая кислота | 726 | 776 |
| Трибутилфосфат | 720 | 853 |
| Метил дигидрожасмонат | 798 | 846 |
| Пентадекановая кислота | 670 | 800 |
| Этил цитрат | 898 | 903 |
| Гексадекановая кислота | 851 | 856 |
| Октадекановая кислота | 866 | 869 |
| Этилен брассилат | 816 | 850 |
| 7,9-ди-терт-бутил-1-оксаспиро(4,5)дека-6,9-диен-2,8-дион | 869 | 875 |

Результаты прямого и обратного поиска для идентифицированных в КВВ веществ по библиотеке масс-спектров приведены в таблице 5

Два образца экстрактов из КВВ были проанализированы методом ГХ/МС в режиме ХИ с регистрацией положительных ионов. Объем анализируемой пробы — 100 мкл. Были установлены значения отношений массы к заряду для основных ионов в масс-спектрах химической ионизации для 22-х веществ, идентифицированных в экстракте из КВВ. Сравнение полученных значений m/z и значений молекулярных масс подтверждает правильность идентификации данных соединений по их масс-спектрам электронной ионизации, так как в условиях химической ионизации изобутаном этих веществ согласно теории преимущественно образуются псевдомолекулярные ионы $[M+H]^+$.

Исследование состава конденсата выдыхаемого воздуха здоровых, больных хронической обструктивной болезнью легких и больных бронхиальной астмой

Были собраны образцы КВВ здоровых людей (30 проб), больных хронической обструктивной болезнью легких (20 проб) и больных бронхиальной астмой (20 проб). Каждый образец проанализировали с использованием разработанного способа ГХ/МС анализа водных растворов. По изучению хроматограмм было выделено 40 веществ (из числа тех 44-х, что были обнаружены в КВВ).

Было произведено сравнение частот обнаружения того или иного вещества в КВВ и диапазонов значений аналитического сигнала по каждому веществу по трем группам: здоровые, больные ХОБЛ, больные бронхиальной астмой.

Большинство веществ из выделенного набора присутствовало практически во всех образцах КВВ каждой группы. Исключения составляют деканол-1, 2-феноксизтанол, никотин, циклододекан, 3-гидрокси-2,4,4-триметилпентиловый эфир 2-метилпропановой кислоты, ундекановая кислота. В случае с 2-феноксизтанолом заметно резкое снижение частоты его появления в КВВ, собранном у больных ХОБЛ, по сравнению с больными бронхиальной астмой и здоровыми. Также следует отметить, что присутствие деканола-1 в образцах КВВ, собранных у больных бронхиальной астмой, наблюдается заметно реже, чем у здоровых и больных ХОБЛ.

Исходя из диапазонов значений аналитического сигнала, можно сделать вывод о том, что концентрация каждого вещества от образца к образцу меняется в пределах 1-3-х порядков. Наименьшие диапазоны значений аналитического сигнала по всем трем группам у деканола, циклододекана, и трибутилфосфата. Наибольшие диапазоны — у фенола, индола и этил цитрата.

Наиболее представительную группу, среди обнаруженных в КВВ соединений, составляют насыщенные жирные кислоты (12 штук)

После обработки результатов анализа 70 образцов КВВ, собранных у здоровых, больных ХОБЛ и больных бронхиальной астмой, с использованием специально разработанного алгоритма, основанного на линейных методах теории распознавания образов, было установлено, что можно различить здоровых и больных бронхиальной астмой с надежностью 75%, здоровых и больных ХОБЛ — с надежностью 85%, больных бронхиальной астмой и ХОБЛ — с надежностью 83%. Из 40 соединений, по которым проводилось сравнение, 9 имеют наибольший информационный вес. В случае «здоровые – ХОБЛ» это были вещества, обозначенные в диссертации под номерами 5 и 9 (из неидентифицированных), этилцитрат и 2,3-дигидро-1-Н-инден-1-он. В случае «здоровые – бронхиальная астма» — вещества под номерами 2,3,7 и деканол-1. В случае «бронхиальная астма – ХОБЛ» — вещество 2, деканол-1 и 2-фенокситанол. Эти вещества могут быть потенциальными маркерами рассмотренных заболеваний. Алгоритм обработки данных разработали и саму обработку провели сотрудники кафедры математической теории интеллектуальных систем механико-математического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

Заключение

Проведено исследование возможности выделения в присутствии сорбента из больших проб растворов ультраследовых количеств (нг-пг) соединений, кипящих в широком диапазоне температур, принадлежащих к различным классам, перевода полученного концентрата в инжектор хроматографа, за счет термодесорбции, и последующего ГХ/МС анализа всего концентрата.

На основании этого исследования разработан способ определения ультраследовых содержаний среднетлетучих органических соединений, принадлежащих к различным классам, в органических растворах, основанный на выделении этих соединений в присутствии сорбента из больших проб растворов (100 мкл), переводе адсорбата за счет термодесорбции в инжектор хроматографа и ГХ/МС анализе всего концентрата.

Проведено исследование жидкостной экстракции метилтретбутиловым эфиром изученных модельных соединений из водных растворов с предварительным высаливанием хлоридом натрия

Разработан способ определения среднелетучих соединений различной полярности в водных растворах, основанный на жидкостной экстракции с высаливанием, сорбционном выделении примесей из большей части экстракта, переводе их за счет термодесорбции в инжектор и ГХ/МС анализе всего концентрата

С использованием разработанного способа анализа водных растворов исследован состав смесей органических соединений в 70-ти образцах КВВ, собранных у больных ХОБЛ, бронхиальной астмой и здоровых людей. В результате математической обработки полученных данных показана возможность различать с высокой надежностью здоровых, больных ХОБЛ и больных бронхиальной астмой между собой. Подобные результаты открывают широкие перспективы для дальнейших исследований

Благодарности

Автор выражает благодарность сотрудникам ФГУ Научно-исследовательского института пульмонологии РосЗДРАВа Т.Н. Анохиной и Э.Х. Анаеву за проделанную работу по сбору образцов КВВ здоровых, больных ХОБЛ и бронхиальной астмой, а также сотрудникам кафедры математической теории интеллектуальных систем механико-математического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова Д.В. Алексееву, М.В. Носову, В.Н. Козлову, В.Б. Кудрявцеву за разработку алгоритма обработки результатов эксперимента и проведение расчетов

Выводы

1. Выбраны оптимальные условия разделения сложных смесей модельных среднелетучих органических соединений различной полярности, изучены масс-спектры модельных соединений и определены их пределы детектирования при ГХ/МС определении
2. С использованием многокомпонентных смесей модельных среднелетучих органических соединений различной полярности исследовано сорбционное концентрирование из органических растворов ультраследовых количеств таких веществ с удалением растворителя в процессе концентрирования вне

- аналитической системы и перевод концентрата термодесорбцией в хромато-масс-спектрометр Разработан способ определения таких соединений в органических растворах, с пределами обнаружения составляющими величины порядка 10^{-8} – 10^{-6} % по массе
- 3 Определены значения степеней извлечения при жидкостной экстракции среднелетучих модельных соединений различной полярности из водных растворов метилтретбутиловым эфиром с предварительным высаливанием
 - 4 Разработан способ определения ультраследовых содержаний среднелетучих органических соединений различной полярности в водных растворах, основанный на жидкостной экстракции, сорбционном концентрировании аналитов из большой пробы экстракта с удалением растворителя в процессе концентрирования вне аналитической системы, термодесорбции и ГХ/МС анализе концентрата из пробы экстракта Пределы обнаружения составили величины порядка 5×10^{-9} - 5×10^{-7} % при объеме вводимой в хроматограф пробы органического экстракта, равном 100 мкл
 - 5 Изучен состав смесей среднелетучих органических соединений, присутствующих в образцах КВВ здоровых людей и больных бронхиальной астмой и ХОБЛ Обнаружено присутствие в КВВ большого числа органических соединений, относящихся к различным классам и содержащихся на ультраследовом уровне
 - 6 Проведено сопоставление результатов анализа для трех групп образцов КВВ (собранных у 30-ти здоровых людей, 20-ти больных бронхиальной астмой и 20-ти больных ХОБЛ) по 40-ка обнаруженным компонентам
 - 7 В результате изучения полученного массива данных с использованием алгоритма, основанного на использовании линейных методов теории распознавания образов, было установлено, что на основании данных, полученных в ходе предварительного исследования, здоровых и больных бронхиальной астмой можно дифференцировать с надежностью 75%, здоровых и больных ХОБЛ — с надежностью 85%, больных бронхиальной астмой и ХОБЛ — с надежностью 83%
 - 8 Выявлена группа веществ, которые могут рассматриваться как потенциальные маркеры бронхиальной астмы и ХОБЛ

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах.

- 1 Родионов А А , Ревельский А И , Анохина Т Н , Анаев Э Х Хроматомасс-спектрометрическое определение среднелетучих органических веществ в конденсате выдыхаемого воздуха // Масс-спектрометрия 2007 Т 4 № 2 С 143-148
- 2 Родионов А А , Долгорукова А В , Ревельский А И Прямое определение кетонов и альдегидов методом хромато-масс-спектрометрии с химической ионизацией и регистрацией положительных ионов // Сорбционные и хроматографические процессы 2007 Т 7 № 5 С 726-732
- 3 Ревельский А И , Родионов А А , Брайцев Р Н , Ревельский И А Выделение примесей из органических растворов с использованием сорбента и хромато-масс-спектрометрический анализ всего концентрата / Всероссийская конференция с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы», Москва, Россия, 12-16 сентября 2005 АС-11
- 4 Родионов А А , Ревельский А И , Анохина Т Н , Анаев Э Х , Анализ конденсата выдыхаемого воздуха, основанный на выделении органических примесей из конденсата жидкостной экстракцией, сорбционном концентрировании из экстракта и ГХ/МС определении / Всероссийский симпозиум «Хроматография в химическом анализе и физико-химических исследованиях», Москва, Россия, 23-27 апреля 2007 С 122
- 5 Родионов А А , Ревельский А И , Определение ультраследовых количеств органических веществ в водных растворах методом ГХ/МС с предварительной их жидкостной экстракцией и сорбционным концентрированием / Всероссийский симпозиум «Хроматография в химическом анализе и физико-химических исследованиях», Москва, Россия, 23-27 апреля 2007 С 40

Подписано в печать 08 04 2008
Формат 60×88 1/16 Объем 1 5 п л
Тираж 100 экз Заказ № 708
Отпечатано в ООО «Соцветие красок»
119992 г Москва, Ленинские горы, д 1
Главное здание МГУ, к А-102