

Санкт-Петербургский государственный университет

***ТЕРНО Павел Владимирович***

**Выпускная квалификационная работа**

*Микроэкстракционное выделение хрома из природной воды и пищевых продуктов для его дальнейшего определения спектральными методами с применением глубоких эвтектических растворителей*

Уровень образования:

Направление: *04.03.01 «Химия»*

Основная образовательная программа: *СВ.5014.2017 «Химия»*

Профиль Аналитический

Научный руководитель:  
к.х.н., доцент Кафедры  
аналитической химии  
Шишов Андрей Юрьевич

Рецензент:  
к.х.н., старший преподаватель  
Кафедры химической  
термодинамики и кинетики  
Самаров Артемий Андреевич

Санкт-Петербург  
2021

## **Содержание:**

### **Глава 1. Обзор литературы**

Принятые условные сокращения и обозначения.....	4
Введение.....	5
1.1. Хром в различных объектах анализа.....	6
1.2. Хром в пищевых продуктах.....	7
1.3. Хром в природной воде.....	8
1.4. Методы определения хрома.....	9
1.5. Глубокие эвтектические растворители.....	13
1.6. Автоматизация химического анализа.....	18
Заключение.....	20

### **Глава 2. Методика экспериментальных исследований**

2.1. Средства измерений и оборудование .....	22
2.2. Реактивы и материалы.....	22
2.3. Приготовление растворов.....	24

### **Глава 3. Методика определения хрома в пищевых продуктах**

3.1. Схема анализа.....	26
3.2. Оптимизация процесса микроэкстракции.....	28
3.3. Выбор противоиона.....	29
3.4. Выбор экстрагента.....	30
3.5. Влияние типа эвтектического растворителя .....	31
3.6. Выбор объема экстрагента и глубокого эвтектического растворителя.....	32
3.7. Выбор концентрации фотометрического регента .....	33
3.8. Изучение мешающего влияния.....	34
3.9. Аналитические характеристики методики.....	35

3.10. Анализ реальных объектов.....	35
-------------------------------------	----

#### **Глава 4. Методика определения хрома в природной воде**

4.1. Общая схема анализа.....	37
4.2. Выбор состава и массы глубокого эвтектического растворителя .....	37
4.3. Влияние рН.....	38
4.4. Выбор объема образца.....	39
4.5. Выбор времени экстракции .....	40
4.6. Изучение мешающего влияния.....	40
4.7. Аналитические характеристики методики.....	40
4.8. Анализ реальных объектов.....	41
Выводы.....	44
Список литературы.....	45

## **Принятые условные сокращения и обозначения**

ГЭР – глубокие эвтектические растворители

ДЖЖМЭ - дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция

ДФК – 1,5 - дифенилкарбазид

ИПС – изопропиловый спирт

ОВР – окислительно – восстановительная реакция

ПАВ – поверхностно активное вещество

ПДК – предельно допустимая концентрация

ТБАбр – тетрабутиламмоний бромид

ТМАбр – тетраметиламмоний бромид

ТЭАбр – тетраэтиламмоний бромид

ХХ – холин хлорид

## **Введение**

Контроль качества пищевых продуктов является важной составляющей современной науки и жизни. Неотъемлемой частью контроля качества продуктов питания является химический анализ как самих готовых продуктов, так и природной воды, используемой в их производстве. Одной из самых важных задач в данном направлении является определение в пищевых продуктах и природной воде тяжелых металлов, к которым в том числе относится хром (Cr). Необходимость его определения обусловлена тем, что Cr (VI), ввиду своей способности конкурировать с Fe в компонентах крови, относится к классу токсичных и опасных для здоровья человека веществ – канцерогенов.

Для его определения разработано большое количество подходов, но многие из них требуют дорогостоящего оборудования либо включают длительные стадии ручной пробоподготовки. Именно поэтому одной из важных задач современной аналитической химии является разработка простых, экспрессных и автоматизированных методик определения Cr (VI) в различных объектах анализа.

## Глава 1. Обзор литературы

### 1.1. Хром в различных объектах анализа

Cr — элемент VI группы 4-го периода периодической системы химических элементов Д. И. Менделеева с атомным номером 24, ввиду чего элемент существует в различных степенях окисления: Cr(II), Cr(III) и Cr(VI). Среди перечисленных именно последняя является наиболее характерной для данного элемента. Первые упоминания этого металла в литературе датируются 1979 годом, но несмотря на это изучение влияния металла на живые организмы началось лишь после 1950х годов [1]. Непосредственно внутрь человеческого организма Cr может проникать через слизистые оболочки, кожу, легкие и вместе с пищей. Далее, попадая на эпителий тонкого кишечника, Cr переносится белками в кровь. Затем некоторая часть  $\text{CrO}_4^{2-}$  ионов связывается с эритроцитами, лейкоцитами и тромбоцитами, восстанавливаясь до формы Cr(III). Восстановленная форма образует стабильный комплекс с гемоглобином на поверхности клеток крови, перемещаясь таким образом по организму. Помимо описанных клеток в крови Cr также связывается с белком трансферрином, который отвечает за транспортировку Fe в крови. Cr вступает в конкуренцию с Fe за участки связывания. Таким образом, мигрируя по организму, в связанном состоянии Cr откладывается в таких органах как печень, лёгкие, костный мозг и поджелудочная железа, что приводит к аллергическим реакциям, мутациям в генетическом материале, экземам, дерматитам, диабету [2]. Помимо прочего, изменяется уровень Ca, что вызывает сердечно – сосудистые заболевания и приводит к пироптозу клеток, способствуя развитию рака [3, 4, 5].

Основные области применения Cr – металлургическая и кожевенная промышленности [6]. Благодаря своей твердости и устойчивости к коррозии Cr используется для анодирования алюминия [7], в качестве добавки к грунтовочной краске для аэрокосмической и автомобильной отделки [8], а также в производстве стали и сплавов [9]. Соли трехвалентного Cr используются для дубления кожи путем сшивания волокон коллагена [10]. В Соединенных Штатах минеральный крокоит ( $\text{PbCrO}_4$ ) использовался в качестве желтого пигмента для школьных автобусов, поскольку он не разлагается на свету и имеет ярко выраженный цвет, но этот показатель снизился из-за экологических проблем, связанных с его утилизацией [11].  $\text{PbCrO}_4$  исторически использовался в качестве пищевой добавки к насыпной муке и

усиливал желтый цвет куркумы [12]. Хромосодержащие пестициды, такие как хромированный арсенат меди ( $\text{Cu}_3(\text{AsO}_4)_2$ ), использовались в деревообрабатывающей промышленности [13], хотя их использование в Великобритании строго ограничено с 2004 года [14]. Такое широкое использование привело к озабоченности по поводу загрязнения окружающей среды Cr (IV) [15]. Cr является одним из четырех приоритетных загрязнителей почвы и металла для Министерства обороны США из-за использования соединений Cr (IV) в фюзеляжах самолетов [16].

## 1.2. Хром в пищевых продуктах

Токсичность и большая подвижность Cr (IV) привели к появлению ряда исследовательских статей, посвященных количественной оценке содержания Cr (IV) в различных пищевых продуктах, включая молоко [17], грибы [18], чай [19], хлеб [20] и пиво [21], с использованием различных методов пробоподготовки и инструментальных методов анализа. Мясо, молочные продукты, хлеб и чай являются наиболее изученными, поскольку они составляют основные источники Cr в рационе человека [22]. Основная цель данных исследований – оценить токсичность Cr (VI) из пищевых продуктов для снижения риска для здоровья человека, связанного с этим путем [23]. В работах показано, что любое содержание Cr (IV), попадая в желудочно – кишечный тракт, будет восстановлена до Cr (III) в кислых условиях желудка [24].

Однако, существуют и другие источники Cr (IV), получаемые во время производства и обработки пищевых продуктов (например, чаны из нержавеющей стали), которые оправдывают необходимость определения содержания Cr в данных объектах анализа. Но Cr может появляться в пищевых продуктах уже после производства, вследствие неправильного хранения. Напитки, хранящиеся в металлических тарах, являются благоприятной средой для потенциального содержания Cr. Одним из ведущих лидеров среди компонентов при производстве тар для напитков является хромированная жесть. Хромированная жесть – это холоднокатанный стальной лист, обе поверхности которого покрыты с обеих сторон тонким слоем оксида хрома (III) ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) с последующим лакированием [25]. С одной стороны, такой состав позволяет расширить ассортимент металлических емкостей для продажи напитков, но с другой стороны при нарушении условий хранения продукции Cr способен переходить непосредственно в напиток. При повышенных температурах

и давлениях возможно растворение эмали на металлической поверхности, чему также способствует кислая среда у подавляющего большинства напитков за счет добавления в них регуляторов кислотности (напр. цитрат натрия ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ )) либо самих кислот (напр. ортофосфорная ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), бензойная ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$ ), аскорбиновая ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ), лимонная ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ )).

### 1.3. Хром в природной воде

Природные и сточные воды также являются одним из основных источников поступления различных органических и неорганических веществ в природу и, как следствие, через продукты питания в организм человека. Одним из самых опасных классов соединений, способных нанести вред здоровью человека, являются тяжелые металлы, в том числе Cr. Он попадает в природные воды со сточными водами некоторых инженерных, химических и кожевенных заводов. Одной из причин является остаток солей Cr (IV) в ваннах для хромирования [26]. Также на каналах водоснабжения хроматы ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ) добавляют в качестве антикоррозионных агентов в воду. Среди форм Cr, присутствующих в воде, шестивалентный Cr представляет большую опасность для здоровья человека и считается одним из опасных канцерогенов [27]. Поэтому определение Cr в образцах окружающей среды является важной задачей аналитической химии.

При анализе природных вод для определения содержания в них Cr возникают проблемы, связанные, с одной стороны, с тем, что необходимо определять его очень низкие концентрации, а с другой стороны, имеется существенное мешающее влияние матрицы пробы.

Несмотря на попытки устранения проблем, связанных с быстрой урбанизацией и нехваткой воды, документально подтверждено, что орошение сельскохозяйственных культур неочищенными бытовыми и промышленными сточными водами приводит к накоплению тяжелых металлов в почвах [28], что увеличивает возможность их перехода в сельскохозяйственных культурах. Следовательно, понимание химического поведения Cr в системах почва-вода имеет важное значение для прогнозирования стабильности видов и вероятности переноса в продукты питания. Cr в воде в том числе накапливается и из естественных источников, таких как выветривание горных пород и осадков, при этом повышенные концентрации связаны со сточными водами из



промышленных источников [6]. Cr имеет сильное сродство с ультраосновными и основными породами (перидотит, серпентинит, габбро, долерит и базальт), потому что некоторые пироксены (например, космохлор) претерпели изоморфное замещение Cr (III) на Al [29]. Cr в почвах обычно образуется в результате выпадений и вымывания хромосодержащих частиц [6] в результате геохимических процессов, таких как выветривание, геодезические процессы и извержения вулканов [30]. Использование осадка сточных вод в сельском хозяйстве в качестве удобрения также может вносить Cr в почвы [31]. Фоновые концентрации Cr в европейских почвах обычно составляют от 5 до 68 мг/кг [32]. Удаление промышленных отходов может снизить процентное содержание Cr в почве.

Из-за присутствия в виде катионных частиц, Cr (III) имеет тенденцию к образованию прочных комплексов с алюмосиликатными глинами, органическим веществом почвы и водными оксидами железа ( $Fe_2O_3$ ) и алюминия ( $Al_2O_3$ ) в почвах, что ограничивает подвижность и биодоступность Cr (III). Сродство почвы к трехвалентному Cr увеличивается с увеличением pH из-за увеличения отрицательного заряда на частицах почвы [33]. Напротив, отрицательный заряд Cr (VI) отталкивает преимущественно отрицательно заряженные глинистые минералы и гумус в почве, что объясняет повышенную подвижность и биодоступность Cr (VI) при повышении pH [34]. В форме  $CrO_4^{2-}$  или  $HCrO_4^-$ , шестивалентный Cr адсорбируется водными  $Fe_2O_3$  и  $Al_2O_3$  [35]. Окисление Cr (III) и восстановление Cr (VI) в почвах зависит от pH, концентрации кислорода и присутствия соответствующих окислительно-восстановительных связывающих агентов. Шестивалентный Cr в виде  $CrO_4^{2-}$  и  $Cr_2O_7^{2-}$  ионов может восстанавливаться Fe (II) и сульфидом ( $S^{2-}$ ) [35], причем Fe (II) преобладает при  $pH > 5.5$ , а  $S^{2-}$  - при более низком pH [36].

Все вышесказанное говорит о необходимости строго контролировать содержание различных форм Cr, в том числе и в природной воде.

#### **1.4. Методы определения хрома**

Для решения проблемы контроля содержания Cr был разработан ряд аналитических процедур, основанных на современных чувствительных спектральных методах, таких как атомная-адсорбционная [37] и атомно-эмиссионная спектрометрия [38], поскольку содержание Cr в объектах анализа настолько мало, что его

концентрация не сопоставима с чувствительностью других методов, в частности нижняя граница диапазона концентраций содержащегося Cr в сточных водах может составлять от 0.02 мкг/л [39], поэтому в случае использования других методов требуется предварительное концентрирование аналита. При определении Cr широко используются методы твердофазной и жидкостно-жидкостной экстракции (табл. 1). Для выделения Cr с помощью твердофазной экстракции были исследованы различные сорбенты, такие как ионообменные смолы (Dowex M 4195 [43]), модифицированные силикагели ( $Nb_2O_5-SiO_2$  [50]), наноматериалы (многослойные углеродные нанотрубки [40]) и гидроксиды (Гидроксид диспрозия [45]). Основным недостатком твердофазной экстракции является трудоемкость стадий сорбции и элюирования из-за медленного массообмена между жидкой и твердой фазами. Как видно из (табл. 1), время твердофазной экстракции может варьироваться от 5 до 10 мин. Равновесие в процессе жидкостно-жидкостной экстракции достигается за 1-20 мин

*Таблица 1. Примеры методик с твердофазной и жидкофазной экстракцией*

<b>Твердофазная экстракция</b>						
<b>Аналит</b>	<b>Объект анализа</b>	<b>Сорбент</b>	<b>Метод детектирования</b>	<b>Предел обнаружения (мкг/л)</b>	<b>Время сорбции, мин</b>	<b>Ссылка</b>
Cr(III) и Cr(VI)	Природная вода	Многослойные углеродные нанотрубки	ААС пламенной атомизацией	с 0.90 (всего)	10	[40]
Cr(III) и Cr(VI)	Природная вода	3-этил-4-(п-хлорбензилидени)амино-4,5-дигидрон-1-1,2,4-триазолон-5	ААС пламенной атомизацией	с 1.00 -	10	[41]
Cr(III) и Cr(VI)	Сточные воды	Amberlite XAD-1180*	ААС пламенной атомизацией	с 8.6 (всего)	25	[42]

\*полимерная смола

*Таблица 1. Примеры методик с твердофазной и жидкофазной экстракцией  
(продолжение)*

Аналит	Объект анализа	Сорбент	Метод детектирования	Предел обнаружения (мкг/л)	Время сорбции, мин	Ссылка
Cr(III) и Cr(VI)	Природная вода	Dowex M 4195	ААС пламенной атомизацией	с - (Cr(III)) 1.94 (Cr(VI))	8	[43]
Cr(III) и Cr(VI)	Природная вода	Хромосорб 108	ААС пламенной атомизацией	с 0.75 (Cr(III)) - (Cr(VI))	12	[44]
Cr(III) и Cr(VI)	Водопроводная вода	Гидроксид диспрозия	ААС пламенной атомизацией	с 0.65 (Cr(III)) 0.75 (Cr(VI))	20	[45]
Cr(III) и Cr(VI)	Природная вода	A&C-НМС	ИСП-МС	0.007 (всего)	20	[46]
Cr(III) и Cr(VI)	Природная вода	CFMSs	ИСП-МС	0.02 (всего)	5	[47]
Cr(III) и Cr(VI)	Природная вода	Amberlite XAD-2010	ААС пламенной атомизацией	с 1.28 (всего)	12	[48]
Cr(III) и Cr(VI)	Сточные воды	Ambersorb 563	Спектрофотометрический метод	3.40 (всего)	15	[49]
Cr(III) и Cr(VI)	Природная вода	Nb <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -SiO <sub>2</sub>	ААС пламенной атомизацией	с 0.34 -	5	[50]
Cr(III) и Cr(VI)	Природная вода	Thullium (III)	ААС пламенной атомизацией	с 0.87 1.18	10	[51]
<b>Жидкостно - жидкостная экстракция</b>						
Cr(III) и Cr(VI)	Природная вода	Triton X-114	ВЭЖХ-УФ	7.5 Cr(III) 3.5 для Cr(VI)	20	[52]
Cr(III) и Cr(VI)	Природная вода	Жидкая мембрана на основе 1-октанола	Спектроколориметрический метод	1.00 Cr(III) 0.70 Cr(VI)	20	[53]
Cr(III) и Cr(VI)	Продукты	CHCl <sub>3</sub>	ИСП-МС	0.03 (всего)	1	[54]

*Таблица 1. Примеры методик с твердофазной и жидкофазной экстракцией  
(продолжение)*

Аналит	Объект анализа	Сорбент	Метод детектирования	Предел обнаружения (мкг/л)	Время экстракции, мин	Ссылка
Cr(III) и Cr(VI)	Природная вода	Гексафторфосфат 1-бутил-3-метилимидазолия , гексафторфосфат 1-октил-3-метилимидазолия , гексафторфосфат 1-гексил-3-метилимидазолия и тетрафторборат 1-бутил-3-метилимидазолия	ААС с пламенной атомизацией	0.0007 Cr(VI)	15	[55]
Cr(III) и Cr(VI)	Водопродная вода	1-октанол	Спектрофотометрия	0.05 (всего)	5	[56]
Cr(III) и Cr(VI)	Природная вода	1-ундеканол	ААС с электротермической атомизацией	0.006 Cr(III)	30	[57]
Cr(III) и Cr(VI)	Водопродная и природная вода	Triton X-100	ААС с пламенной атомизацией	0.18 (всего)	20	[58]
Cr(III) и Cr(VI)	Водопродная вода	Triton X-114	ААС атомизацией	0.021 Cr(III)	20	[59]

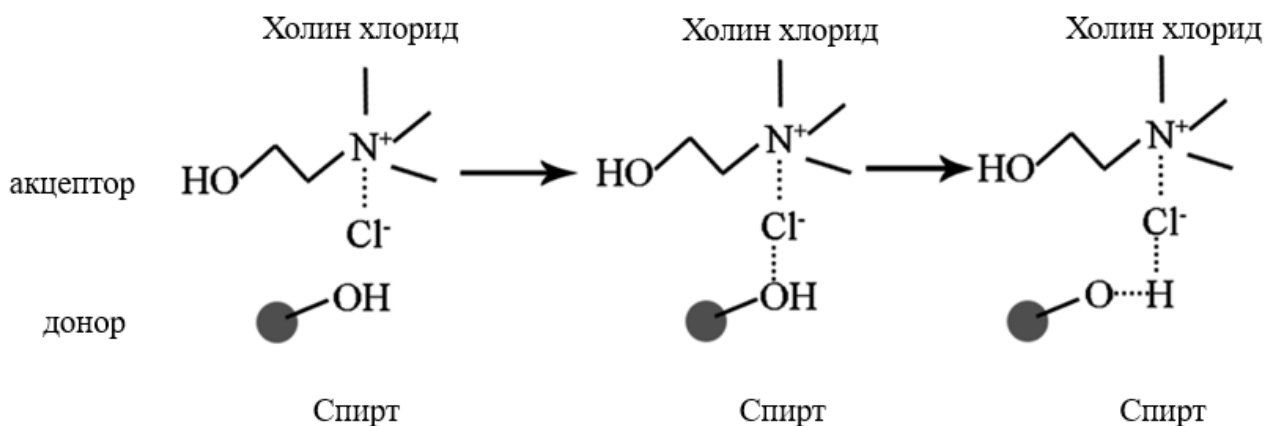
*Таблица 1. Примеры методик с твердофазной и жидкофазной экстракцией  
(продолжение)*

Аналит	Объект анализа	Сорбент	Метод детектирования	Предел обнаружения (мкг/л)	Время экстракции, мин	Ссылка
Cr(III) и Cr(VI)	Природная вода	ГЭР на основе хлорида холина и фенола	ААС с пламенной атомизацией	5.50 (всего)	2	[60]

Однако обычные процедуры экстракции предполагают использование опасных и дорогих экстракционных растворителей, таких как поверхностно-активные вещества [61], хлорорганические соединения [62], вещества, содержащие фенол [63] и ионные жидкости [55]. Для эффективной и экологически безопасной предварительной обработки проб выбор экологически безопасного, селективного и дешевого экстракционного растворителя всегда является сложной задачей в методах предварительной обработки проб. Для решения этой задачи, в последнее время, находят применение глубокие эвтектические растворители.

### **1.5. Глубокие Эвтектические Растворители**

Одной из основных и безусловно важных задач в области физико – химических методов анализа является поиск новых, эффективных и экологически безопасных экстрагентов. В последнее время для решения этой задачи все большее применение находят глубокие эвтектические растворители (ГЭР) в качестве экологически безопасных и дешевых растворителей для предварительной пробоподготовки образцов и применения их в жидкостно-жидкостной экстракции [65]. ГЭР состоят из двух или более компонентов, связанных межмолекулярными взаимодействиями с образованием водородных связей. Температура плавления эвтектической смеси как правило ниже, чем температуры плавления исходных компонентов [66], поэтому многие ГЭР являются жидкими при комнатной температуре. В качестве акцепторов водородной связи чаще всего выступают четвертичные соли аммония, а в качестве доноров водородной связи – карбоновые кислоты, спирты, мочевины и ее производные. Пример образования ГЭР представлен на (рис. 1).



*Рисунок 1. Образование ГЭР на примере холин хлорида и спирта.*

В настоящее время ГЭР позиционируются как дешевая и экологичная альтернатива ионным жидкостям, ввиду небольшой стоимости исходных компонентов и малых затрат на синтез. Процедура изготовления ГЭР чаще всего заключается в простом смешивании донора и акцептора в заданном мольном соотношении и нагревании смеси для получения гомогенной жидкости. Большинство эвтектических систем схожи по свойствам и просты в приготовлении за счет того, что не требуют высоких значений температур (для полной гомогенности системы достаточно небольшого нагревания), высоких давлений и усиленных механических воздействий. Кроме того, компоненты ГЭР зачастую биоразлагаемы и нетоксичны, что является одним из важных аспектов зеленой аналитической химии.

Глубокие эвтектические растворители в основном используются в химическом анализе в качестве эффективных экстрагентов, как аналоги органических растворителей [67] или ионных жидкостей [68]. Однако в последнее время они получили широкое распространение и в других направлениях [69]. Например, они используются в электроаналитической химии как среда для модификации электродов [70], для модификации подвижной [71] и неподвижной [72] фаз в хроматографии, как аналоги окислительных смесей при предварительном разложении образцов [73] и для синтеза [74] или модификация [75] твердофазных сорбентов. Однако, несмотря на широкие возможности, наибольшее распространение они получили в качестве экстрагентов [76]. Поскольку большинство соединений, используемых для синтеза ГЭР, растворимы в воде, они нашли наибольшее применение при анализе неполярных жидких образцов, таких как пищевые масла [77, 78] и нефтепродукты [79].

Эвтектические соединения, состоящие из нерастворимых в воде соединений, таких как ментол и жирные кислоты [80] или четвертичные аммониевые соли и жирные кислоты [81] или спирты [82], чаще всего используются для экстракции аналитов из проб воды. В то же время в последнее время в литературе появилась информация о нестабильности ГЭР на основе четвертичных соединений при контакте с водой [83]. Это связано с тем, что наиболее часто используемое для приготовления подобных ГЭР соединение – бромид тетрабутиламмония является водорастворимым. В водном растворе соединение аммония диссоциирует, и это приводит к разрушению водородной связи, растворению соединения аммония и образованию фазы гидрофобного донора водородной связи (жирного спирта или кислоты). Это явление было использовано как новый метод дисперсионной микроэкстракции [67]. В последнее время ГЭР находят все большее применение при определении различных металлов, в частности Cd и As в вине [84], Zn и Pb в шлаке при производстве металлов [87], Hg в крови [90], Cr и Mo в почвах [95] и Cr в напитках [89]. Примеры методик определения металлов в различных объектах анализа с применением ГЭР представлены в (табл. 2).

*Таблица 2. Определение металлов в различных объектах анализа с применением глубоких эвтектических растворителей*

Аналит	Объект анализа	ГЭР / соотношение	Метод экстракции	Метод детектирования	ПО, мкг/л	Ссылка
Cd As	Вино	Октановая кислота и тетрабутиламмония бромид (1:1)	Дисперсная жидкостно-жидкостная микроэкстракция	ААС с пламенной атомизацией	0.080 0.30	[84]
Cd (II) Zn (II)	Масло	Гликолевая кислота и миндальная кислота (2:1)	Жидкостно-жидкостная микроэкстракция	ААС с пламенной атомизацией	0.12 0.18	[86]

*Таблица 2. Определение металлов в различных объектах анализа с применением глубоких эвтектических растворителей (продолжение)*

<b>Аналит</b>	<b>Объект анализа</b>	<b>ГЭР / соотношение</b>	<b>Метод экстракции</b>	<b>Метод детектирования</b>	<b>ПО, мкг/л</b>	<b>Ссылка</b>
Pt	Вторичный источник (использованные компьютерные платы, гальванические растворы, электрический лом)	Оксид триоктилфосфина и Бутанол-1 (1:1)	Жидкостно-жидкостная экстракция	ААС с пламенной атомизацией	1.092	[85]
Zn (II) Pb (II)	Шлак от производства металлов	Холин хлорид + этиленгликоль (1:2)	Твердофазная экстракция	АЭС ИСП	0.12 0.06	[87]
Pb (II) Cd (II) Co (II) Ni (II)	Водопродная и природная вода	Хлорид тригексилфосфония и тиосалициловая кислота (1:2)	Жидкостно-жидкостная микроэкстракция	ВЭЖХ-УФ	0.05 0.13 0.06 0.11	[88]



**Таблица 2. Определение металлов в различных объектах анализа с применением глубоких эвтектических растворителей (продолжение)**

Аналит	Объект анализа	ГЭР / соотношение	Метод экстракции	Метод детектирования	ПО, мкг/л	Ссылка
Cr (III) Cr (VI)	Питьевая вода и продукты питания	Холин хлорид и фенилэтанол (1:2)	Жидкофазная микроэкстракция	ААС с пламенной атомизацией	0.3 -	[89]
Hg (I)	Водопродовная и природная вода	Холин хлорид и фенол (1:3)	Жидкофазная микроэкстракция	ААС с пламенной атомизацией	0.07	[90]
Fe (III) Mn (II)	Водные образцы	Декановая кислота и лидокаин (2:1)	Жидкофазная экстракция	АЭС ИСП	- -	[91]
Pb (II) Cd (II) Hg (I)	Почва и овощи	1-децил-3-метилимидазолий хлорид и 1-ундеканол (1:2)	Жидкостно-жидкостная микроэкстракция	ААС с электротермической атомизацией	0.01– 0.03	[92]
Fe Zn Cu	Рыба	Холин хлорид и щавелевая кислота (1:2)	Ультразвуковая и микроволновая экстракция кислотным выщел-ием	ААС с пламенной атомизацией	5.30 1.12 0.63	[96]

*Таблица 2. Определение металлов в различных объектах анализа с применением глубоких эвтектических растворителей (продолжение)*

Аналит	Объект анализа	ГЭР / соотношение	Метод экстракции	Метод детектирования	ПО, мкг/л	Ссылка
Cd (II) Ni (II) Pb (II) Cu (II)	Водопродная и природная вода	Холин хлорид и Триэтиламин (1:1)	Жидкостно-жидкостная микроэкстракция	ААС с пламенной атомизацией	0.31 0.99 0.83 0.36	[93]
Hg (I)	Кровь	1-октил-3-метилимидазолий хлорид и 1-ундеканол (1:2)	Жидкостно-жидкостная микроэкстракция	ААС с электротермической атомизацией	0.10	[94]
As Cr Mo Sb Se	Почвы	Холина хлорид и щавелевая кислота (1:2)	Ультразвуковая экстракция	ИСП-АЭС	0.1 0.04 0.06 0.03 0.09	[95]

Представленные данные позволяют сделать вывод о том, что глубокие эвтектические растворители вызывают все больший интерес в аналитической химии, в том числе для определения металлов в разных объектах анализа, например для определения Cd и As в вине [84], Zn и Pb в шлаке при производстве металлов [87], Hg в крови [90], Cr и Mo в почвах [95] и Cr в напитках [89].

## 1.6 Автоматизация химического анализа

Важной целью аналитической химии является не только разработка методики, но и её автоматизация, поэтому одной из целей данной работы является автоматизация

химического анализа. Именно поиск общих подходов к решению проблем в сфере автоматизации методов химического анализа является актуальной задачей современной аналитической химии, которая возникает из-за необходимости выполнения большого числа рутинных анализов в том числе пищевых продуктов, объектов окружающей среды, продукции фармацевтической и химической промышленности, различного сырья и других объектов массовых анализов. Помимо автоматизации химического анализа в наше время также прослеживается тенденция его миниютиаризации, а именно – сокращение расхода реагентов, проб и образования отходов, что оказывает положительное влияние на развитие концепции зеленой аналитической химии. Обобщенным решением всех вышеперечисленных проблем является переход от классической статической схемы выполнения аналитических процедур к проточным методам анализа. Для определения Cr в различных объектах анализа предложены некоторые варианты проточного анализа. В том числе In-line определение Cr (VI) в природных водах [97], In-line определение общего содержания Cr в морской воде [98], In-line определение Cr (VI) в водопроводной воде [99], On-line определение общего содержания Cr в водопроводной воде [100], On-line определение Cr (III) в сталях [102], single-line определение Cr (VI) в морской воде [103]. Автоматизированные методики определения Cr в различных объектах анализа представлены в (табл. 3).

*Таблица 3. Автоматизированные методики определения Cr в различных объектах анализа*

<b>Форма Cr</b>	<b>Объект анализа</b>	<b>Проточный метод</b>	<b>Метод детектирования</b>	<b>ПО, мкг/л</b>	<b>Ссылка</b>
Cr (VI)	Природная вода	In-line	Спектрофотометрический	0.024	[97]
Cr (VI) Cr (III)	Морская вода	In-line	ААС с пламенной атомизацией	0.02 (всего)	[98]
Cr (VI)	Водопроводная вода	In-line	ИСП МС	-	[99]

*Таблица 3. Автоматизированные методики определение Cr в различных объектах анализа*

<b>Форма Cr</b>	<b>Объект анализа</b>	<b>Проточный метод</b>	<b>Метод детектирования</b>	<b>ПО, мкг/л</b>	<b>Ссылка</b>
Cr (VI) Cr (III)	Водопродная вода	On - line	ААС с пламенной атомизацией	0.09 (всего)	[100]
Cr (III)	Природная вода	On - line	ААС с пламенной атомизацией	0.5	[101]
Cr (III)	Сталь	On - line	ИСП-АЭС	-	[102]
Cr (VI)	Морская вода	single-line	спектрофотометрический	0.5	[103]

### **Заключение**

Одной из самых важных задач в современной аналитической химии является определение в пищевых продуктах и природной воде тяжелых металлов, к которым в том числе относится Cr. Необходимость определения Cr вызывается не только его токсичностью, но и повсеместным накоплением в различных объектах анализа. Использование шестивалентного Cr в качестве материала для изготовления чанов и неправильное хранение напитков в тарах из хромированной жести приводят к накоплению Cr (VI) в продуктах питания. В свою очередь выветривание горных пород, использование Cr в составе красок, компонента легирования сталей и дубления кожи приводит к накоплению Cr (III) и Cr (VI) в природных водах.

Для решения проблемы контроля содержания Cr был разработан ряд аналитических процедур, основанных на современных чувствительных спектральных методах с использованием как жидкостно-жидкостной, так и твердофазной сорбции. Для эффективной и экологически безопасной предварительной обработки проб выбор экологически чистого, селективного и дешевого экстракционного растворителя всегда является сложной задачей в методах предварительной обработки проб.

Для решения этой задачи, в последнее время, находят применение глубокие эвтектические растворители, вызывая все больший интерес в аналитической химии. Они применяются в том числе для определения металлов в разных объектах анализа, например для определения Cd и As в вине [84], Zn и Pb в шлаке при производстве металлов [87], Hg в крови [90], Cr и Mo в почвах [95] и Cr в напитках [89].

## Глава 2. Методика экспериментальных исследований

### 2.1. Средства измерений и оборудование

- Спектрофотометр «UVmini-1240» (Shimadzu, Япония), спектральный диапазон от 190 до 1100 нм.
- Электронные весы «Pioneer PA-214C» (Ohaus, США), 2-ой класс точности, предел взвешивания 210 г, дискретность 0,1 мг
- Центрифуга ОПн-8 (ОАО ТНК «Дастан»), максимальная частота вращения – 8000 об/мин.;
- Атомно-абсорбционный спектрометр АА 7000 с пламенной атомизацией (Shimadzu, Япония).
- Лампа для детектирования Сг с полым катодом на длине волны 357,9 нм
- Атомно-эмиссионный спектрометр ICPE-9000 с индуктивно-связанной плазмой (Shimadzu, Япония);
- рН-метр ORION 720A + с комбинированным электродом.
- Гидравлическая схема ЦИА для определения Сг включает: восьмифазовый соленоидный кран (Cole-Parmer, США), перистальтический насос «MasterFlex L/STM» (Cole-Parmer, США) (скорость потока от 0,5 до 5 мл/мин), смесительную камеру (стеклянная трубка с воронкообразным входом в нижней части, высота – 35 мм, внутренний диаметр – 10 мм), удерживающую спираль (120 см, внутренний диаметр – 0,5 мм), шприцевой насос «Sciware» (Испания), оптоволоконный спектрометр (источник видимого света LS-1 и спектрометр USB 4000, Ocean Optics, США), снабжённый проточной кюветой FIA-Z-SMA-50-TEF, FIALAB, США (длина оптического пути 50 мм). Коммутация отдельных узлов аэрогидравлической схемы обеспечивалась
- Колбы мерные вместимостью 25, 50, 100 мл (ГОСТ 1770-74).
- Дозаторы Ленпипет 100-1000 мкл, 1-5 мл (ГОСТ 25336-82).

### 2.2. Реактивы и материалы

- 1 - Гептанол (C<sub>7</sub>H<sub>16</sub>O), х.ч.
- 1 - Гексанол (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O), х.ч.
- 1 – Деканол (C<sub>10</sub>H<sub>22</sub>O), х.ч.

- 1 - Октанол ( $C_8H_{18}O$ ), х.ч.
- 1,5 – дифенилкарбазид ( $C_{13}H_{14}N_4O$ ), х.ч.
- Ацетон ( $C_3H_6O$ ), ч.д.а.
- Ацетонитрил ( $C_2H_3N$ ), х.ч.
- Изопропиловый спирт ( $C_3H_8O$ ) х.ч.
- Краситель «Пончо E124».
- Краситель «Сансет жёлтый E110».
- Краситель «Кармуадин E122».
- Краситель «Бриллиантовый синий E133».
- Краситель «Индиго кармин E132».
- Метанол ( $CH_3OH$ ), х.ч.
- Муравьиная кислота ( $HCOOH$ ), ч.д.а., ГОСТ 5848-73.
- Хлорид натрия ( $NaCl$ ), ч.д.а., ГОСТ 4233-77.
- Реальные образцы (питьевая вода, яблочный сок, природная вода);
- Тетрабутиламмония бромид ( $C_{16}H_{36}BrN$ ), х.ч.
- Тетраметиламмония бромид ( $C_4H_{12}BrN$ ), х.ч.
- Тетраэтиламмония бромид ( $C_8H_{20}BrN$ ), х.ч.
- Уксусная кислота ( $CH_3COOH$ ), ч., ГОСТ 61-75.
- Холин хлорид ( $C_5H_{14}NO$ ), ч.д.а.
- Азотная кислота ( $HNO_3$ ), х.ч.
- Гексановая кислота ( $C_6H_{12}O_2$ ), х.ч.
- Гептановая кислота ( $C_7H_{14}O_2$ ), х.ч.
- Октановая кислота ( $C_8H_{16}O_2$ ), х.ч.
- Нонановая кислота ( $C_9H_{18}O_2$ ), х.ч.
- 2,4 – дифенилкарбазид ( $C_6H_5(NH)_2CO(NH)_2C_6H_5$ ), х.ч.
- Додecilсульфат натрия ( $NaC_{12}H_{25}SO_4$ ), х.ч.
- Перманганат калия ( $KMnO_4$ ), х.ч.
- Фруктоза
- Глюкоза

### 2.3. Приготовление растворов

*Приготовление раствора дихромата калия с концентрацией Cr (VI) 0.0143 г/л.* Растворяли 0.0485 г  $K_2CrO_4$  в 1 л воды. Раствор  $K_2CrO_4$  является источником  $CrO_4^{2-}$  ионов. Он устойчив и может храниться от месяца до полугода.

*Приготовление раствора дихромата калия с концентрацией Cr (VI) 40.0 мкг/л.* Разбавляли концентрированный раствор  $K_2CrO_4$  с концентрацией 0.143 г/л. Для этого 70 мкл концентрированного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили до метки дистиллированной водой. Разбавленный раствор готовили непосредственно перед каждым анализом.

*Приготовление экстракционной смеси для фотометрического определения.* Для эксперимента смешивали 10 г ТБАбр, 3 г муравьиной кислоты. Смесь нагревали до состояния гомогенной жидкости. Затем добавляли 20 мг фотометрического реагента (ДФК) и 2 мл экстрагента (1-гептанола). В итоге получали 10 мл экстракционной смеси.

*Приготовление экстракционной смеси для атомно-абсорбционного определения.* Для эксперимента смешивали 0.548 г тетрабутиламмоний бромид и 0.452 г гексановой кислоты таким образом, чтобы мольное количество кислоты было два раза больше количества соли, а суммарная масса обоих компонентов равнялась одному грамму. Эвтектическую систему готовили непосредственно перед каждым анализом.

*Отбор проб.* Отбор проб речных и сточных вод производился с использованием полипропиленовых бутылок, очищенных 10%  $HNO_3$  и дважды деионизированной водой. За день до проведения анализа производился пробоотбор природной воды из Бабигонского пруда. Паспорт пробы представлен в (табл. 4). Вода выливалась из бутылки, затем бутылка ополаскивалась пробой, чтобы не занижать результаты анализа, разбавляя пробу оставшейся в бутылке водой. Далее бутылка была заполнена в месте, где глубина пруда была не менее 30 см. Проба отбиралась при погружении бутылки в воду таким образом, чтобы пробоотбор происходил не с поверхности воды,



поскольку она может быть загрязнена и проба, отобранная с поверхности, может быть не представительной. Затем проба хранилась в холодильнике во избежание размножения бактерий. В природной воде могут присутствовать анаэробные бактерии (за счет наличия растительности на дне водоемов), которые ввиду субстратного фосфорилирования вырабатывают органические соединения, которые во время анализа могут коптить и засорять систему подачи пробы. Далее образцы фильтровали на месте с использованием шприцевых фильтров 0.22 мкм. Концентрация Cr всегда определялась в течение одного дня после отбора проб.

*Таблица 4. Паспорт пробы*

<b># Пробы</b>	<b>1</b>
Шифр образца	ТПВ_ШАЮ_BULATOVLAB_ПВ_01
Тип образца	Природная вода
Адрес места отбора	59.8449307, 29.8865579
Дата и время пробоотбора	29.03.2021 18:00
Глубина отбора пробы	25-30 см
Температура отбираемой пробы	4 <sup>0</sup> С
Материал ёмкости хранения пробы	Пластмасса
Способ консервации	Охлаждение, раствор HNO <sub>3</sub>
Условия окружающей среды	Пасмурно, 9 <sup>0</sup> С
Регламентирующий документ	ГОСТ 31861, ПНД Ф 14.1:2:4.135-98
ФИО Отбирателя	Терно Павел Владимирович

## Глава 3. Методика определения Сг в пищевых продуктах

### 3.1. Схема анализа

Общая схема анализа изображена на (рис. 2). На первом этапе 0.6 мл экстракционной смеси, которая состояла из ТБАБр, муравьиной кислоты, додецилсульфата натрия и октанола-1, впрыскивали в шприц путем обратного движения плунжера шприцевого насоса со скоростью 1.5 мл/мин через порт 1. Затем многоходовой кран переключатель был переключен на порт 2, и 4 мл пробы впрыскивали в шприц таким же образом со скоростью 10 мл/мин. Кроме того, вводили 0.4 мл воздуха (через порт 3) для удаления образца, оставшегося в шланге. Образец и смесь для экстракции перемешивали в течение 60 с. Шприцевой насос и мешалку останавливали на 30 с, обеспечивая экстракцию и разделение фаз. На заключительном этапе верхняя фаза, содержащая окрашенный комплекс, была перенесена в проточную кювету спектрофотометра, и измерение оптической плотности проводили в условиях остановленного потока в течение 5 секунд при длине волны 540 нм, и раствор направлялся в слив. Шприц и проточную ячейку промывали после каждого измерения 1 мл изопропилового спирта, проходящего через порт 4.

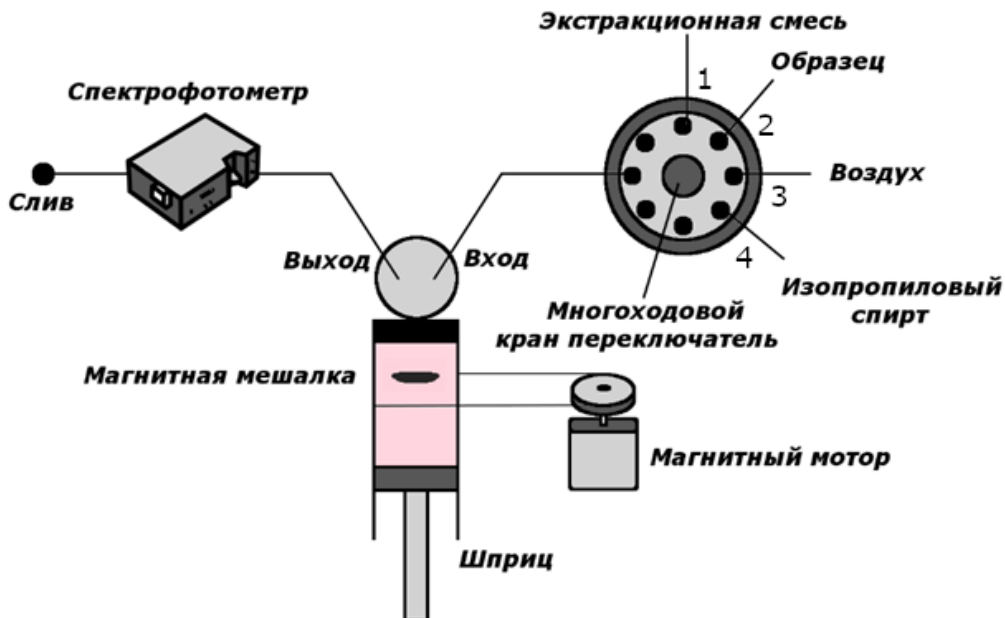
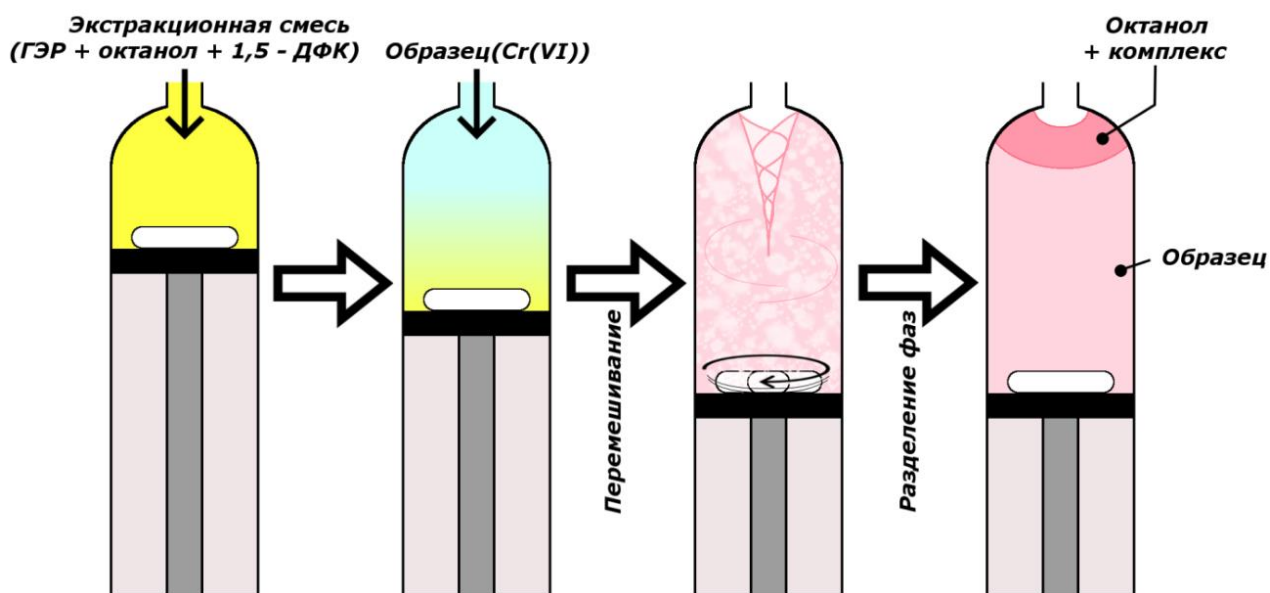


Рисунок 2. Общая схема анализа.

Первоначально в качестве экстрагента был выбран октанол-1, однако на первых этапах исследования (без использования эвтектического растворителя) было установлено, что для достижения равновесия в данной системе требуется продолжительное перемешивание фаз. Ввиду этого было принято решение добавить в

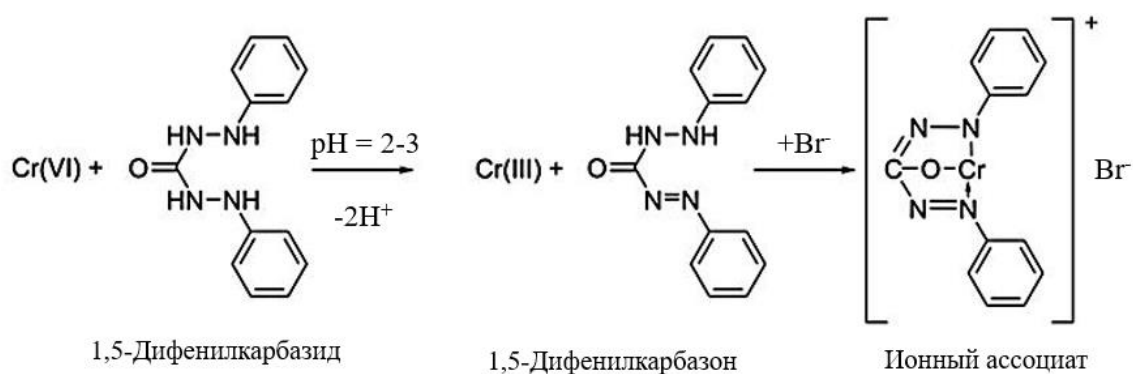
реакционную смесь диспергатор – вещество, диспергирующее экстрагент в фазе пробы для улучшения эффективности экстракции и как результат – сокращению времени анализа. В качестве диспергатора нами был выбран представитель описанного ранее подкласса ионных жидкостей – ГЭР.

В представленной схеме ГЭР состоит из тетрабутиламмоний бромид и муравьиной кислоты. Аммонийная соль является акцептором водородной связи и ввиду хорошей растворимости в воде проявляет высаливающий эффект. Кислота, в свою очередь, является донором водородной связи и помимо обеспечения необходимого pH реакционной смеси, является компонентом с наилучшим соотношением силы кислоты и растворимости по сравнению с донорами – аналогами. Более подробная, поэтапная схема анализа представлена на (рис. 3).



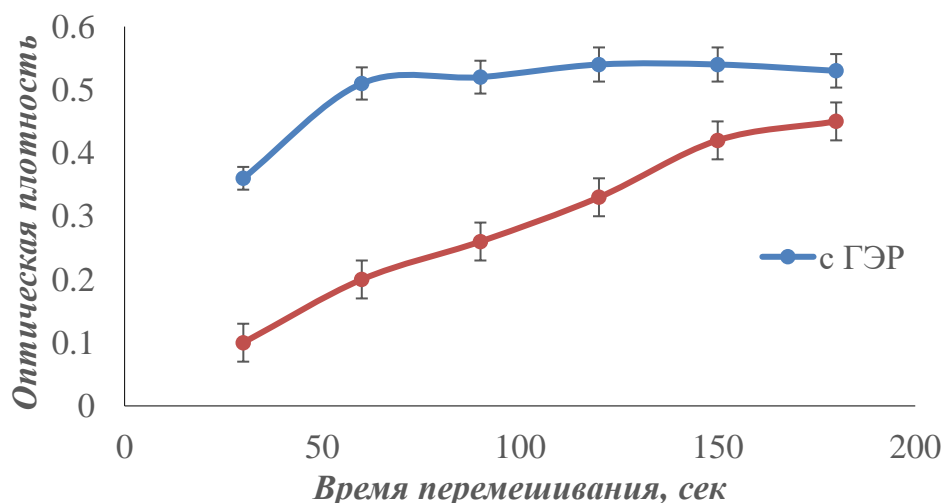
*Рисунок 3. Поэтапная схема анализа.*

Анализ проводился по известной фотометрической реакции образования комплекса Cr (VI) с 1.5-ДФК. Шестивалентный Cr реагирует с 1.5-ДФК, образуя в результате ОВР 1.5-дифенилкарбазон и Cr (III), которые в присутствии  $\text{Br}^-$  анионов связываются в ионный ассоциат имеющий розовую окраску. Схема образования фотометрируемого комплекса представлена на (рис. 4).



**Рисунок 4.** Схема образования фотометрируемого комплекса.

Была изучена кинетика экстракции аналитической формы в присутствии и в отсутствии глубокого эвтектического растворителя. В первом случае в качестве экстрагента использовали ГЭР, а во втором только октанол-1. Результаты представлены на графике.



**Рисунок 4.** Влияние использования ГЭР в качестве диспергатора на кинетику экстракции.

Благодаря тому, что при добавлении диспергатора с одной стороны увеличивается площадь соприкосновения обеих фаз, а с другой стороны ГЭР проявляет высаливающий эффект эффективность и скорость экстракции при использовании ГЭР увеличивается. Таким образом для дальнейших исследований была использована система с применением глубокого эвтектического растворителя.

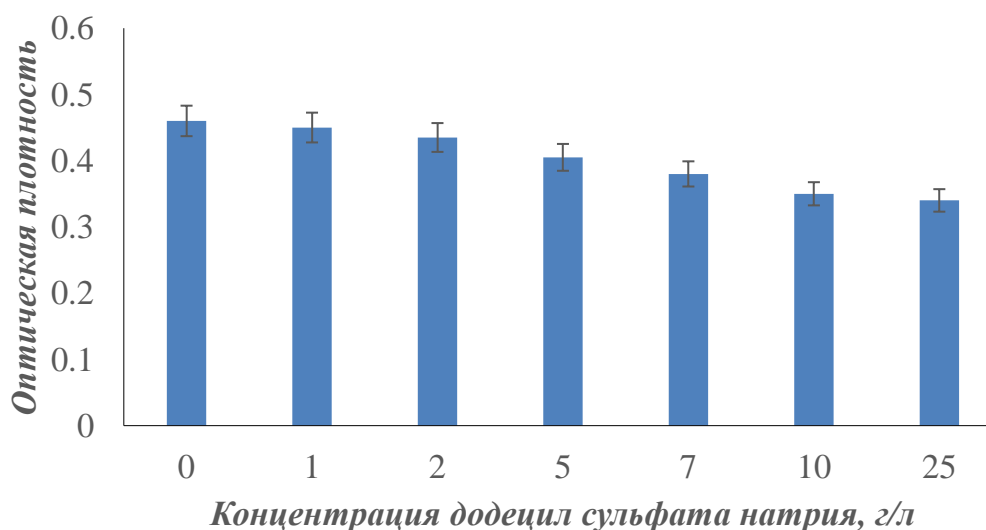
### 3.2. Оптимизация процесса микроэкстракции

Для оптимизации процесса микроэкстракции в шприцевой насос вводили экстракционную смесь, которая состояла из глубокого эвтектического растворителя

(ТБАбр + муравьиная кислота), экстрагента (гептанола - 1), фотометрического реагента (1.5 дифенилкарбазид), и вещества для создания ионного ассоциата (додецилсульфат натрия). Все параметры, такие как состав эвтектического растворителя, концентрация фотометрического реагента и противоиона были изучены и оптимизированы. Во всех случаях объем пробы составлял – 4 мл, что было максимально при фиксированном объеме шприца – 5 мл. Концентрация Cr в растворе составила 40.0 мкг/л

### 3.3. Выбор противоиона

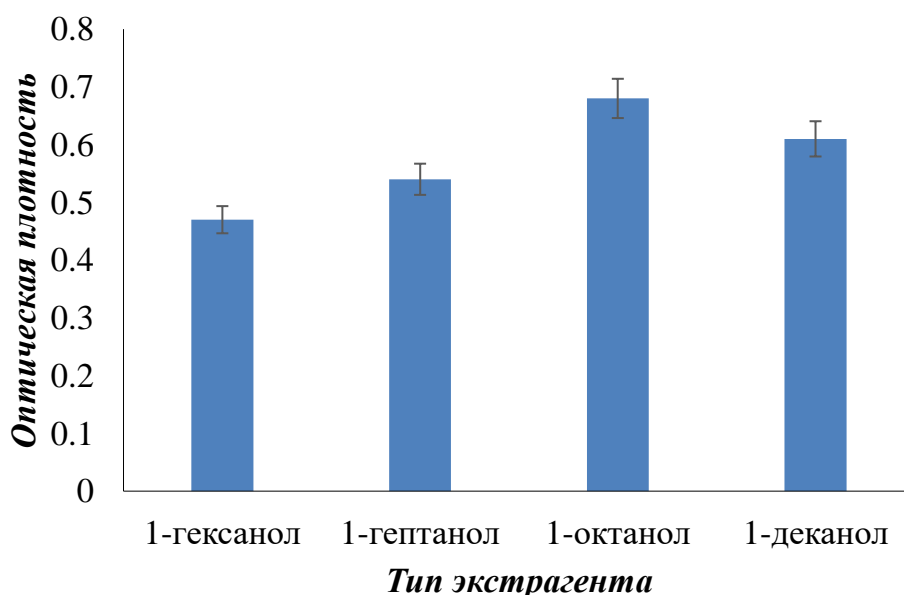
Комплекс Cr (III) с 1,5-дифенилкарбазоном может быть извлечен только как нейтральная ионная пара в присутствии избытка анионов (додецилсульфат, тиоцианат, перхлорат, нитрат, хлорид) [56]. Бромид-ионы, полученные при диссоциации бромида тетрабутиламмония, могут действовать как ион-парный агент, образуя с комплексом Cr ион-парный ассоциат. Для подтверждения этого явления экстракцию комплекса в 1-октанол проводили в присутствии бромида натрия (0.5 моль/л), бромида тетрабутиламмония (0.5 моль/л) и додецилсульфата натрия (0.5 моль/л). Было обнаружено, что значения оптической плотности экстрактов в присутствии бромида натрия и бромида тетрабутиламмония были сопоставимы и выше, чем для додецилсульфата (Рис. 5). Таким образом, в дальнейшем было решено отказаться от использования додецилсульфата в качестве противоиона.



*Рисунок 5. Зависимость оптической плотности от концентрации додецил сульфата натрия.*

### 3.4. Выбор экстрагента

Растворитель для экстракции должен иметь высокое сродство к аналиту, быть нерастворимым в воде, смешиваться с ГЭР и быть совместимым с проточными системами и системами детектирования. Среднецепочечные спирты (1-гексанол, 1-гептанол, 1-октанол и 1-деканол) были изучены как экстракционные растворители. Для этого 0.5 мл ГЭР (ТБАбр - муравьиная кислота в мольном соотношении 1:2) смешивали с 0.2 мл спирта, содержащего ДФК (6 г/л). Эту смесь использовали для экстракции Cr (VI) из 4 мл раствора образца, содержащего 40 мкг/л Cr (VI). Результаты показали, что 1-октанол имел самую высокую эффективность экстракции среди других растворителей из-за его высокого сродства к аналиту. Этот факт можно объяснить снижением растворимости среднецепочечных спиртов в воде. С одной стороны, 1-октанол имеет более высокую растворимость и, как следствие, растворимость комплекса в водной фазе увеличивалась. С другой стороны, эффективность диспергирования органической фазы снижалась с уменьшением растворимости спирта, что приводило к низкой эффективности экстракции. Данные представлены на (рис. 6).



*Рисунок 6. Зависимость оптической плотности от типа экстрагента.*

### 3.5. Влияние типа эвтектического растворителя

Для эффективного диспергирования экстрагента (1-октанола) в водной фазе были изучены несколько ГЭР на основе карбоновых кислот и четвертичной аммониевой соли. Кислоты обеспечивали необходимое значение рН (1–3) для образования ассоциата аналита [100], соль четвертичного аммония способствовала массопереносу между водной фазой и каплями экстракционного растворителя в качестве высаливающего агента. Были проверены четыре четвертичных аммониевых соли (ТБАбр, ТМАбр, ТМАбр и ХХ) и две карбоновые кислоты. 0.7 мл экстракционной смеси, содержащей 0.5 мл ГЭР, 0.2 мл 1-октанола иДФК (6 г/л), смешивали в шприце с 4 мл образца (40 мкг/л Cr (VI)). Пробу и экстракционную смесь перемешивали 60 с. Было показано, что с увеличением размера катиона четвертичного аммония эффективность экстракции возрастала за счет более высокого эффекта высаливания. Между тем, максимальное значение оптической плотности было достигнуто для муравьиной кислоты в качестве донора в ГЭР на основе бромид тетрабутиламмония. Этот факт можно объяснить тем, что муравьиная кислота сильнее ( $pK_a = 3,74$  [104]), чем уксусная ( $pK_a = 4,76$  [104]), что приводит к образованию подходящих условий для образования комплекса. Данные представлены на (рис. 7).

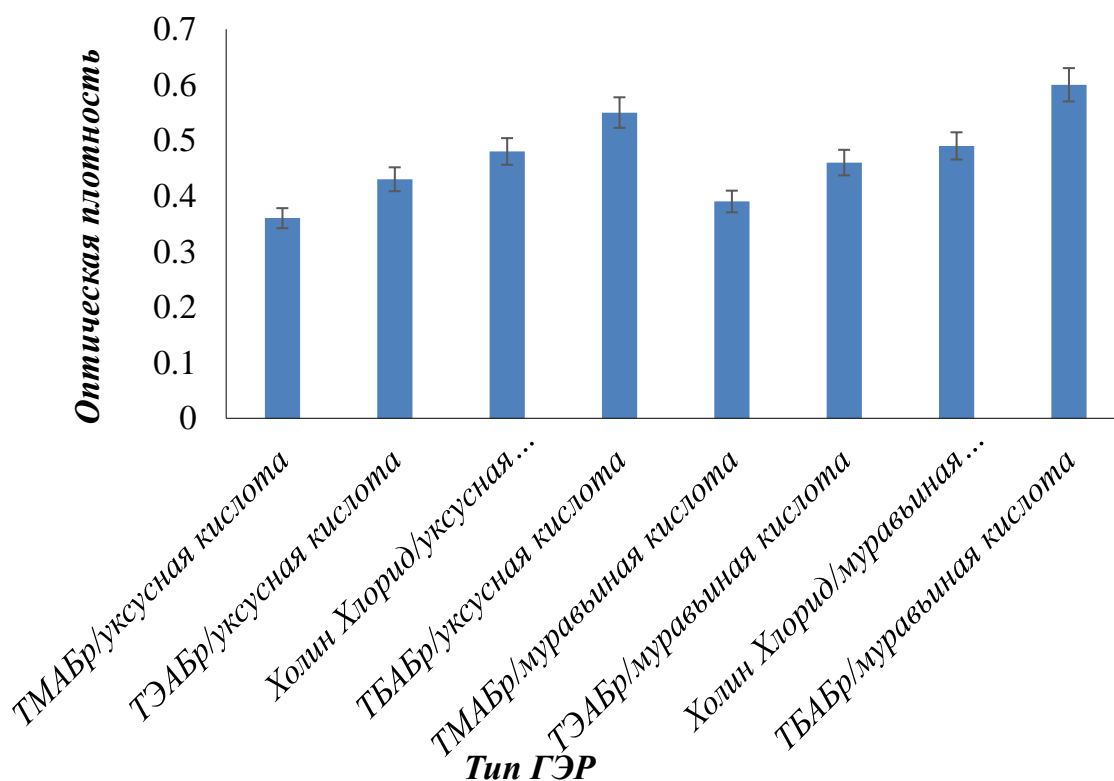
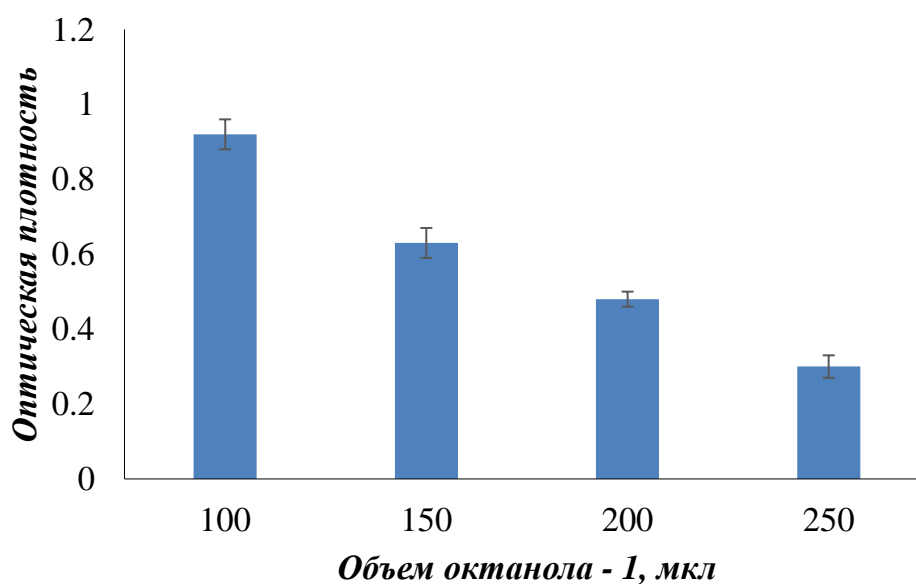


Рисунок 7. Зависимость оптической плотности от состава ГЭР.

Также было изучено влияние мольного соотношения бромида тетрабутиламмония и муравьиной кислоты на эффективность экстракции. Мольное соотношение варьировали от 1:1 до 1:5. Было показано, что увеличение муравьиной кислоты в фазе ГЭР до соотношения 1:4 приводит к увеличению поглощения. Дальнейшее изменение состава ГЭР не привело к значительному изменению оптической плотности. Таким образом, было выбрано оптимальное мольное соотношение тетрабутиламмонийбромида и муравьиной кислоты 1:4.

### 3.6. Выбор объема экстрагента и ГЭР

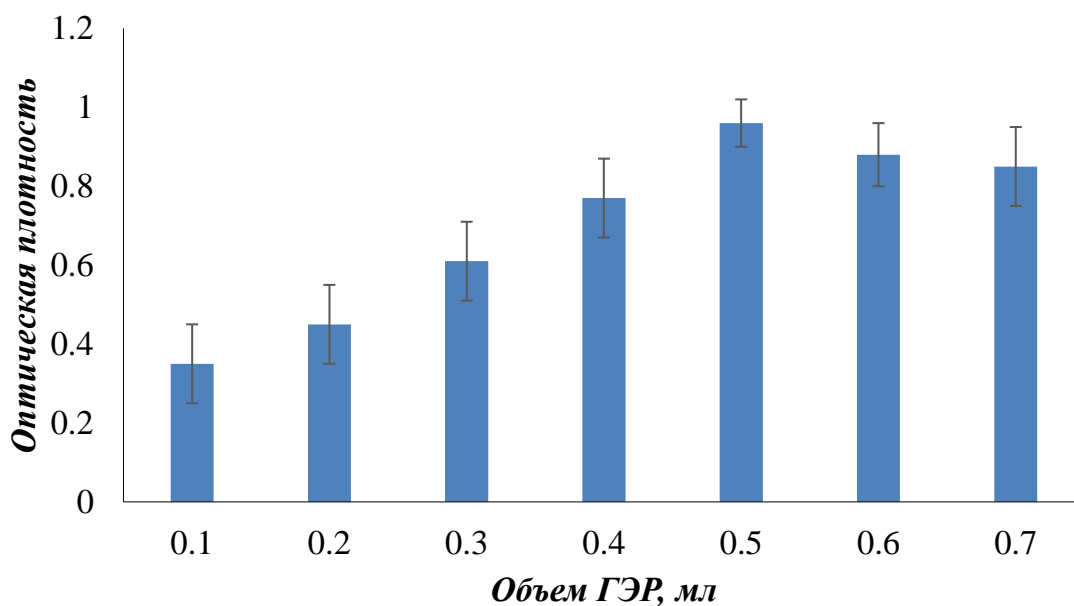
Объем октанола-1 варьировали от 0.1 до 0.25 мл, а объем ГЭР при этом составлял 500 мкл. Как можно видеть, 0.1 мл в качестве объема октанола-1 обеспечивает максимальный аналитический сигнал. Дальнейшее увеличение объема экстрагента приводило к эффекту разбавления. Данные представлены на (рис. 8).



*Рисунок 8. Зависимость оптической плотности от объема экстрагента.*

Чтобы найти оптимальный объем ГЭР, 100 мкл экстрагента растворяли в различных объемах ГЭР от 0.1 до 0.7 мл. 0.5 мл ГЭР было достаточно для получения наибольшей оптической плотности и экстракции аналита с минимальным стандартным отклонением. Данные представлены на (рис. 9).

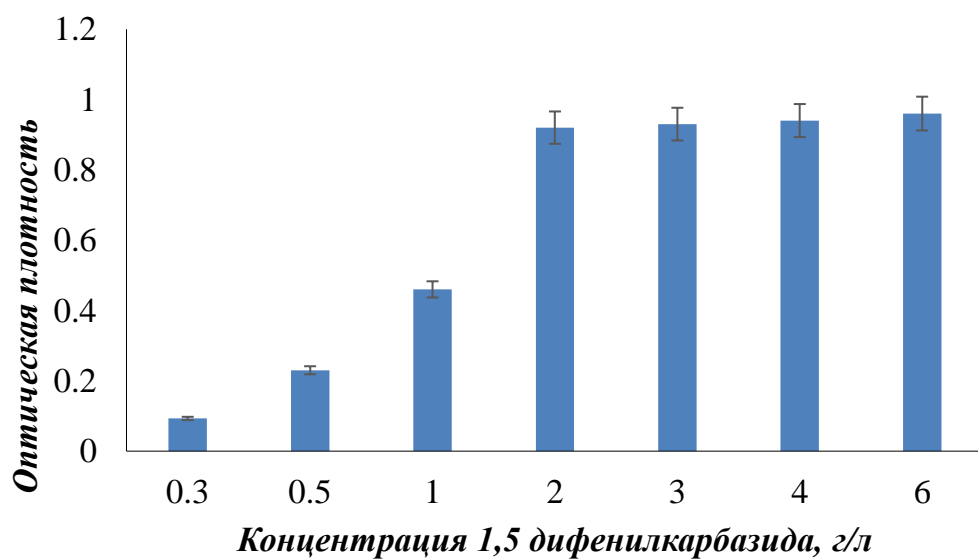




*Рисунок 9. Зависимость оптической плотности от объема ГЭР.*

### 3.7. Выбор концентрации фотометрического реагента

Влияние концентрации 1,5-дифенилкарбазида исследовали в диапазоне от 0.3 до 6 г/л в экстракционной смеси. Оптическая плотность увеличивалась с увеличением концентрации реагента до 2 г/л, а затем оставалось постоянным. Данные представлены на (рис. 10).



*Рисунок 10. Зависимость оптической плотности от концентрации ДФК*

### 3.8. Изучение мешающего влияния

Важным шагом является оценка селективности метода, влияние различных веществ, преимущественно присутствующих в напитках, таких как К (I), Na (I), Mg (II), Ca (II), Fe (II), Fe (III), Cu (II), фруктоза, глюкоза и красители, на экстракцию и определение Cr (VI). Водные растворы, содержащие Cr (VI) в концентрации 40 мкг/л и прочие соединения в различной концентрации, анализировали по разработанной методике. Исследуемое вещество считалось мешающим, если его присутствие приводило к изменению оптической плотности экстрагента более чем на 5%. Результаты показали, что исследованные посторонние вещества не влияли на эффективность извлечения Cr (VI) в исследованных концентрациях. Результаты представлены в (табл. 5).

*Таблица 5. Допустимые концентрации потенциально мешающих соединений*

Добавка	Допустимая концентрация (мкг/л)
Mg (II)	1000
Ca (II)	1000
Fe (II)	1000
Fe (III)	100
Cu (II)	100
K (I)	1000
Na (I)	1000
Фруктоза	10000
Глюкоза	10000
Сансет жёлтый E110	1000
Кармуадин E122	1000
Пончо E124	1000

### 3.9. Аналитические характеристики методики

Для оценки предложенной процедуры были определены некоторые соответствующие параметры, такие как величина достоверности аппроксимации ( $R^2$ ), предел обнаружения (ПО), предел определения, степень извлечения и прецизионность. Градуировочная кривая была получена с использованием стандартных растворов Cr (VI) в воде. Градуировочный график был линейным в диапазоне концентраций от 0.6 до 40 мкг/л с коэффициентом корреляции линейности 0.993. Предел обнаружения, рассчитанный в холостом тесте на основе  $3\sigma$ , составлял 0.2 мкг/л. Предел определения, рассчитанный в холостом тесте на основе  $10\sigma$ , составлял 0.6 мкг/л. Прецизионность рассчитывалась с точки зрения внутрисуточной повторяемости (эксперименты повторяли 5 раз) и межсуточной воспроизводимости (5 разных дней) с использованием уровней концентрации 0.6 и 40 мкг/л для аналита в рабочих растворах. Воспроизводимость процедуры в течение дня, оцениваемая как относительное стандартное отклонение (СКО), составляла от 4 до 6%, а воспроизводимость между днями была  $<8\%$  во всех случаях. Эффективность экстракции составила 95%. Производительность по образцам составляла 10 образцов/ч.

### 3.10. Анализ реальных образцов

Разработанная методика применялась для определения Cr (VI) в шести различных образцах напитков. Все образцы были предварительно отфильтрованы. Ни в одном образце не было обнаружено аналита. Образцы с добавками получали добавлением 0.1 мл соответствующего количества Cr (VI). В качестве аналитического сигнала регистрировали поглощение на спектрофотометре при 540 нм.

Надежность разработанной процедуры изучалась путем анализа образцов с добавками с использованием процедуры сравнения, согласно [105]. 5 мл образца вносили в мерные колбы и разбавляли до 25 мл 1% раствором  $\text{HNO}_3$ , а затем проводили анализ с помощью атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой. Интенсивность излучения измеряли при 267.716 нм.

Далее была проведена математическая обработка. Аналитические результаты хорошо согласуются с результатами, полученными по стандартной методике [106].

$F$ -значения  $\leq 9.28$  указывают на незначительную разницу в точности между разработанными и референтными процедурами при уровне достоверности 95%.  $t$ -значения  $\leq 3.18$  указывают на незначительную разницу между результатами, полученными с использованием этих методов. Данные представлены в (табл. 6).

**Таблица 6.** Результаты анализа  $Cr$  в напитках ( $n = 4$ ,  $P = 0.95$ ,  $F_k = 9.28$ ,  $t_k = 3.18$ )

Образец	Введено, мкг/л	Найдено, мкг/л		t-критерий	F-критерий
		Предложенный метод	ААС		
Яблочный сок	0	<ПО	<ПО	-	-
	5	5.07±0.04	5.21±0.01	1.28	4.84
Вишневый сок	0	<ПО	<ПО	-	-
	10	9.82±0.05	9.12±0.01	2.03	6.12
Питьевая вода	0	<ПО	<ПО	-	-
	10	9.21±0.04	9.51±0.01	1.09	4.75
Газированная вода	0	<ПО	<ПО	-	-
	20	18.67±0.03	19.28±0.02	2.58	6.12
Лимонад	0	<ПО	<ПО	-	-
	20	20.56±0.02	20.22±0.02	1.56	3.66

## Глава 4. Методика определения Cr в природной воде

### 4.1. Общая схема анализа

300 мг ГЭР (на основе тетрабутиламмония бромида и гексановой кислоты) смешивали с 12 мл пробы, подкисленной  $\text{HNO}_3$ . Также был добавлен  $\text{KMnO}_4$  для перевода всего Cr (III) в Cr (VI). При этом происходило образование ассоциата  $\text{CrO}_4^{2-}$  с ТБАБр и его извлечение в фазу кислоты, которая после разбавления изопропиловым спиртом была проанализирована методом ААС. Общая схема представлена на (рис. 11).

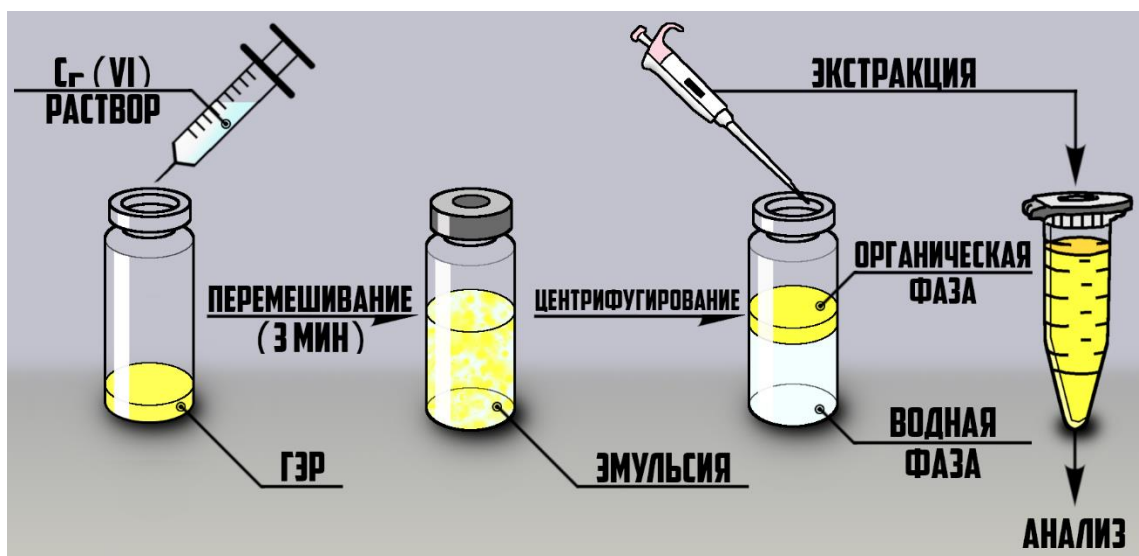
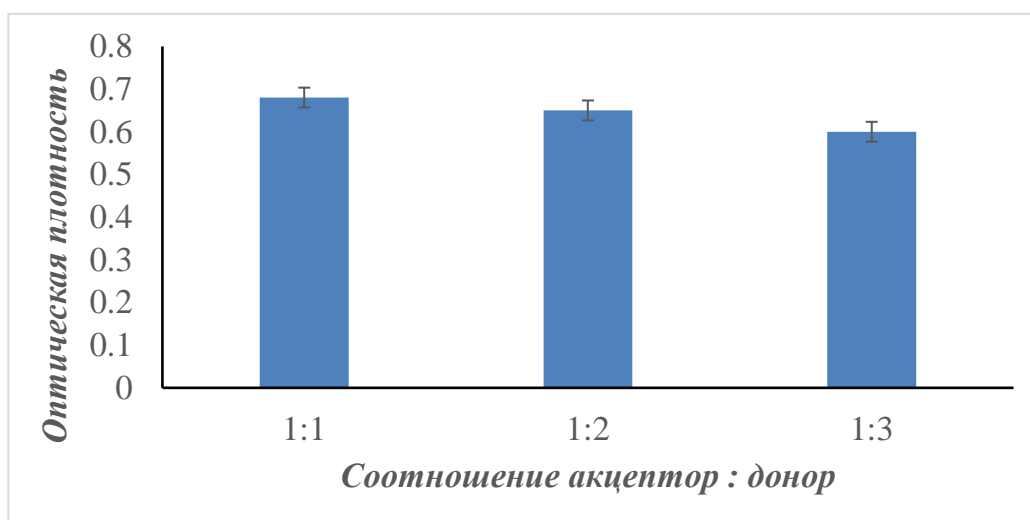


Рисунок 11. Общая схема анализа хрома в природной воде

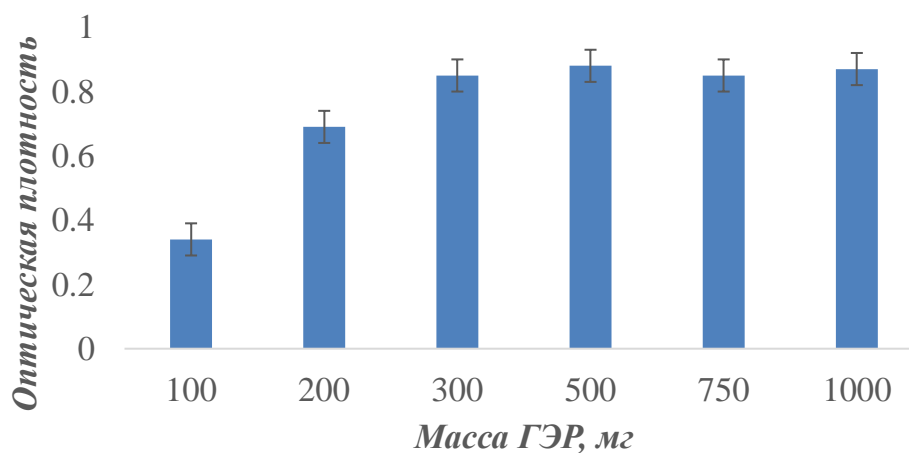
### 4.2. Выбор состава и массы ГЭР

Гексановая кислота была выбрана в качестве донора водородной связи для образования эвтектического растворителя, поскольку она экстрагирует наибольшее количество аналита. ТБАБр был выбран в качестве акцептора ввиду того, что это вещество обладает хорошим высаливающим эффектом. Молярные отношения между акцептором и донором (1:1 моль/моль, 1:2 моль/моль и 1:3 моль/моль) исследовали для экстракции Cr (VI). 1г ГЭР смешивали с 5 мл раствора аналита и полученную органическую фазу анализировали (рис. 12).



*Рисунок 12. Зависимость оптической плотности от соотношения акцептора и донора*

Массу ГЭР варьировали от 100 мг до 1 г. Минимальная масса ГЭР, обеспечивающая эффективное разделение фазы гексановой кислоты с меньшим стандартным отклонением, составила 300 мг. Данные представлены в (рис. 13).



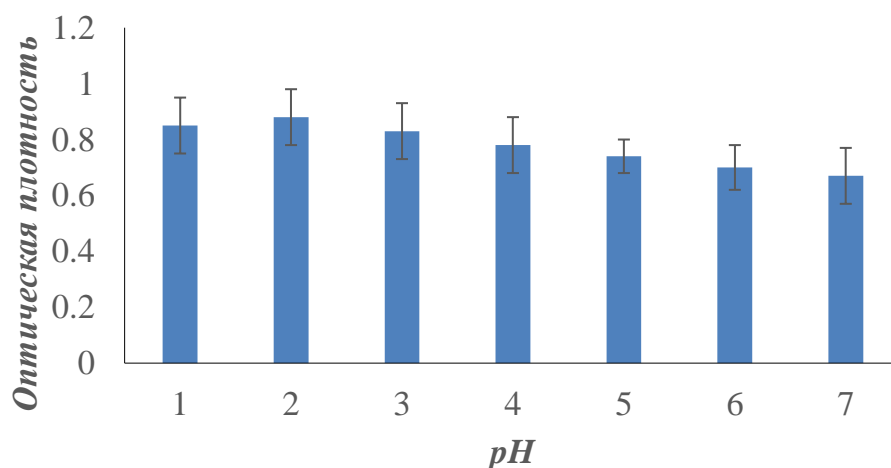
*Рисунок 13. Зависимость степени извлечения от массы ГЭР*

#### 4.3. Влияние pH

Cr (VI) образует ионный ассоциат с тетрабутиламмониумом в кислой среде, который экстрагируется в фазу гексановой кислоты. Образование ионных ассоциатов и их химическая стабильность зависят от кислотности среды. При этом  $\text{CrO}_4^{2-}$  анион, образующийся в кислом растворе, образует наиболее устойчивые ионные ассоциаты.

Для получения необходимой кислотности среды использовалась азотная кислота. Было оценено влияние рН в диапазоне от 1.0 до 7.0 на эффективность извлечения Cr (VI), результаты представлены на (рис. 14).

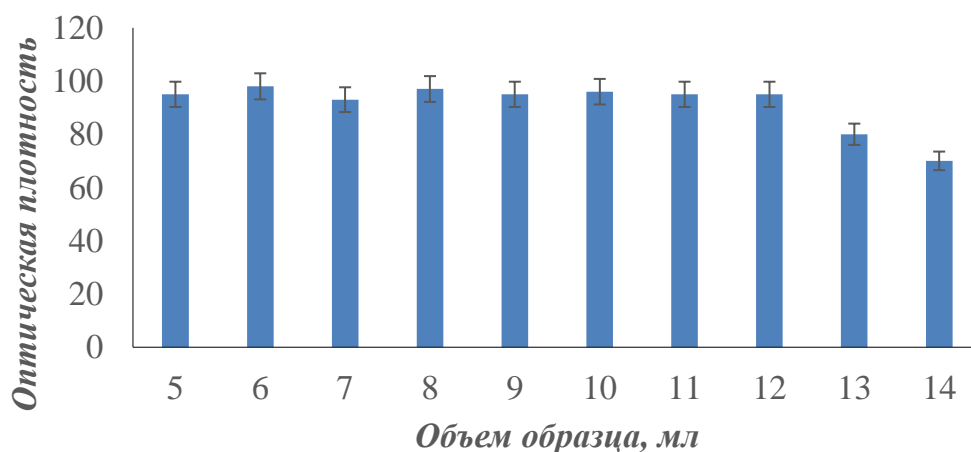
На основании полученных результатов можно сделать вывод, что оптимальное значение рН для экстракции Cr (VI) составляет от 2 до 3.



*Рисунок 14. Зависимость оптической плотности от рН среды*

#### **4.4. Выбор объема образца**

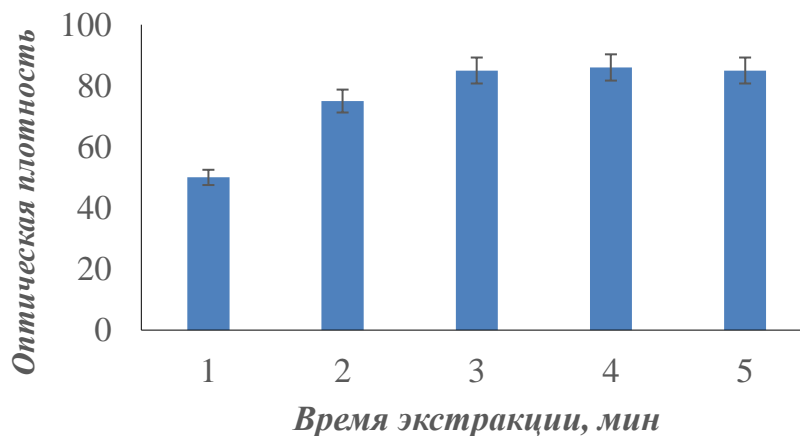
Для оптимизации объема ГЭР объем варьировали от 5 до 15 мл с фиксированной массой ГЭР (300 мг). Из полученных данных видно, что с увеличением объема пробы более 12 мл эффективность экстракции снижается. Таким образом, объем пробы 12 мл был выбран в качестве наиболее оптимального. Результаты представлены на (рис. 15).



*Рисунок 15. Зависимость оптической плотности от объема образца*

#### 4.5. Выбор времени экстракции

Для уменьшения времени подготовки образца, необходимо оптимизировать время экстракции. Время варьировалось от 1 до 10 минут. Результаты показали, что для достижения равновесия было достаточно трех минут в качестве времени перемешивания. Результаты представлены на (рис. 16).



*Рисунок 16. Зависимость оптической плотности от времени экстракции*

#### 4.6. Изучение мешающего влияния

Для изучения мешающего влияния в раствор, содержащий фиксированные концентрации Cr (VI), вводились ионы различных металлов. Затем проводилась процедура в оптимальных условиях. Критерием начала мешающего действия служила концентрация мешающего иона, при которой значения аналитического сигнала отличались более чем на 5% от значения без этого иона. Были изучены наиболее распространенные ионы металлов и установлено, что допустимое отношение концентрации посторонних ионов к 2 мкг/л Cr (VI) составляло 500 для Mg (II) и Ca (II); 50 для Cd (II) и Fe (III); 20 для Zn (II), Cu (II), Pb (II) и Mn (II).

#### 4.7. Аналитические характеристики методики

Для калибровки оборудования и установления метрологических характеристик метода использовались стандартные растворы 1000 мг/л шестивалентного Cr для ААС. При этом водный раствор Cr пропускаться через все стадии пробоподготовки. Холостой раствор (деионизированная вода), используемый для определения предела обнаружения, также прошел все стадии подготовки образца. Градуировочный график



для обеих форм (Cr (III) и Cr (VI)) был линейным в диапазоне концентраций 0.015 – 0.5 мкг/л. Было обнаружено, что предел обнаружения (ПО) (рассчитанный как тройное СКО пяти холостых измерений) составлял 0.005 мкг/л (для Cr (III) и Cr (VI)), а предел определения (рассчитанный как десять СКО пяти холостых измерений) составлял 0.015 мкг/л (для Cr (III) и Cr (VI)). Воспроизводимость (в течение одного дня и в течение нескольких дней) методики оценивали путем десятикратного повторения экстракции и определения аналитов при уровне концентрации 0.1 мкг/л. Эффективность экстракции составляла 89% соответственно.

#### **4.8. Анализ реальных образцов**

Для демонстрации применимости предложенного метода для мониторинга качества природных и сточных вод была применена процедура определения разновидности Cr в реальных образцах. Концентрации аналита в образцах, полученные с помощью калибровочной кривой, показаны в таблице. В образцах речной и сточной воды обнаружен только Cr (III). Концентрация Cr (VI) была меньше ПО (табл. 7).

Точность и надежность были дополнительно изучены путем анализа образцов с добавками с использованием процедуры сравнения. Процедура сравнения была выполнена согласно [56] методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой. Примерно 80 мл пробы было профильтровано в коническую колбу через фильтр синяя лента, чтобы твердые частицы не забились капилляр системы подачи пробы. После завершения фильтрации разбавляли профильтрованную воду в 5 раз. Этот шаг был необходим, во-первых, для уменьшения матричного влияния. А во-вторых, чтобы измеряемые концентрации попадали в пределы градуировочной зависимости. Матричное влияние заключается, во-первых, в наличие органических соединений, которые при сгорании, образуя копоть, способны вывести из строя систему подачи пробы, засорив ее. Во-вторых, при отсутствии разбавления рабочие растворы отличались бы по вязкости от градуировочных растворов или холостых проб, что может привести к неудовлетворительной воспроизводимости распыления пробы. Образец воды объемом 10 мл, доведенный до pH 2 с помощью 0.1 моль/л HNO<sub>3</sub>, смешивали с 1 мл раствора 2.4-дифенилкарбазида (0.01 моль/л) и додецилсульфата натрия (0.05 моль/л). Затем к раствору добавляли 1 мл октанола-1 и

смесь перемешивали в течение 20 мин с использованием магнитной мешалки для экстракции комплекса 2.4-дифенилкарбазида с Cr (III). При этом в одном случае (с добавлением  $\text{KMnO}_4$ ) была получена концентрация общего содержания Cr, а в другом случае (без добавления  $\text{KMnO}_4$ ) была получена концентрация Cr (VI). Концентрация Cr (III) равна разности полученных концентраций. После этого смесь центрифугировали в течение 5 мин, органическую фазу дважды разбавляли 10%-ной  $\text{HNO}_3$  в изопропиловом спирте и анализировали. Интенсивность излучения измерялась на наиболее чувствительной и свободной от спектральной интерференции линии при 267.716 нм.

*Таблица 7. Результаты анализа Cr в природной воде ( $n = 4$ ,  $P = 0.95$ ,  $F_k = 9.28$ ,  $t_k = 2.78$ )*

Образец	Введено, мкг/л		Найдено, мкг/л				t-критерий	F-критерий
			Предложенный метод		АЭС ИСП			
	Cr (III)	Cr (VI)	Cr (III)	Cr (VI)	Cr (III)	Cr (VI)		
Речная вода	0	0	0.120 ± 0.004	<ПО	0.110 ± 0.005	<ПО	1.33	3.54
Речная вода	0.1	0.1	0.210 ± 0.006	0.110 ± 0.003	0.230 ± 0.005	0.12 ± 0.004	2.11	5.41
Водопроводная вода	0	0	0.390 ± 0.014	<ПО	0.36 ± 0.02	<ПО	1.76	6.15
	0.1	0.1	0.480 ± 0.021	0.100 ± 0.004	0.45 ± 0.03	0.100 ± 0.005	2.14	5.19

Таблица 7. Результаты анализа Cr в природной воде ( $n = 4$ ,  $P = 0.95$ ,  $F_k = 9.28$ ,  $t_k = 2.78$ ) (продолжение)

Образец	Аттестованное значение, мкг/л		Найдено, мкг/л				t-критерий	F-критерий
			Предложенный метод		АЭС ИСП			
	Cr (III)	Cr (VI)	Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III)	Cr(VI)		
ГСО 7257 - 96	0	0.25	<ПО	0.26 ± 0.01	<ПО	0.25 ± 0.01	1.17	2.66

Затем была проведена математическая обработка. По результатам обработки аналитические результаты хорошо согласуются с результатами, полученными методом сравнения. Были оценены критические значения F и t тестов. F-значения  $\leq 19.00$  указывают на отсутствие существенной разницы в точности между обоими методами при уровне достоверности 95%. t-значения  $\leq 2.78$  указывают на отсутствие существенной разницы между результатами, полученными с использованием этих методов ( $n = 3$ ). Кроме того, для валидации разработанного метода использовались сертифицированные стандартные образцы Cr (III) и Cr (VI). Результаты не показали различий, которые были обнаружены на уровне достоверности 95%, между сертифицированными и полученными значениями.

## Выводы

1. В первой части работы был разработан новый подход к автоматизированной дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции, основанный на использовании глубокого эвтектического растворителя в качестве диспергатора. ГЭР, состоящий из тетрабутиламмоний бромид и муравьиной кислоты, был исследован в качестве диспергирующего растворителя для экстракции Cr (VI) из напитков. Было показано, что ГЭР способствует эффективному диспергированию, что приводит к уменьшению времени экстракции, высокой эффективности экстракции за счет эффекта высаливания (роль тетрабутиламмоний бромид) и большого количества протонов (роль муравьиной кислоты) и как следствие – это приводит к образованию ионного ассоциата. Автоматизированная процедура экстракции применялась для определения Cr (VI) в напитках. Результаты показали, что предложенная процедура проста и чувствительна. ПО, полученный для разработанной процедуры, сравним с ПО процедур, основанных на жидкофазной микроэкстракции (табл. 2). Полученные данные для Cr (VI) были меньше ПДК (ПДК для Cr (VI) в напитках составляет 0.5 мг/л [107]) Предлагаемая процедура имеет ряд преимуществ, включая автоматизацию, миниатюризацию и экономичность.

2. Во второй части работы был разработан новый подход к определению Cr, основанный на эффективной микроэкстракции аналитов с использованием глубокого эвтектического растворителя с последующей атомно-адсорбционной спектрометрией с электротермической атомизацией. Впервые для экстракции Cr (VI) был исследован ГЭР, состоящий из тетрабутиламмоний бромид и длинноцепочечного спирта. Было обнаружено, что жирные кислоты обеспечивают стабильность Cr (VI) и его удовлетворительную экстракцию. Для экстракции Cr (VI) предложен глубокий эвтектический растворитель на основе тетрабутиламмоний бромид и гексановой кислоты. Процедура была оптимизирована и применена для определения содержания Cr в пробах природных и сточных вод. По сравнению с существующими процедурами (табл. 2), разработанная методика имеет сравнительно низкие ПО, не требует использования специальных сорбентов или использования токсичных и летучих органических растворителей, таких как хлороформ или дорогих и трудно синтезируемых ионных жидкостей. В своей работе мы использовали простой в

синтезе, экологический и безопасный глубокий эвтектический растворитель. Использование ГЭР позволило не только разработать простой метод экстракции Cr, но и получить высокую селективность экстракции за счет образования ионного ассоциата Cr с бромидом тетрабутиламмония. Кроме того, предлагаемая процедура быстрее, чем большинство из предлагаемых в литературе. Помимо решения этой конкретной задачи, данная процедура при правильном выборе экстрагента позволит добиться селективности извлечения других опасных материалов для контроля природных и сточных вод. Кроме того, использование в качестве экстрагента экологически чистой гексановой кислоты позволит использовать не только спектральные, но и хроматографические методы обнаружения, что открывает еще большие перспективы для данного способа пробоподготовки. Полученные данные для Cr (VI) были меньше ПДК (ПДК для Cr (VI) в напитках составляет 0.02 мг/л [108]). ПДК для Cr (III) не установлено для природных вод.

### **Список литературы**

- [1] Третьяков Ю.Д. Неорганическая Химия. Т.2. Химия Переходных Элементов. Том 3 Книга 1, 2007. 400 с.
- [2] Staniek, H. The combined effects of Cr(III) propionate complex supplementation and iron excess on copper and zinc status in rats. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 53, 49–54 (2019).
- [3] Zhu, Y. et al. Effects of Cr(VI)-induced calcium-sensing receptor activation on DF-1 cell pyroptosis. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 179, 257–264 (2019).
- [4] Yang, S. et al. Status assessment and probabilistic health risk modeling of metals accumulation in agriculture soils across China: A synthesis. *Environ. Int.* 128, 165–174 (2019).
- [5] Cao, X. et al. Toxic effects of Cr(VI) on the bovine hemoglobin and human vascular endothelial cells: Molecular interaction and cell damage. *Chemosphere* 355–363 (2019).
- [6] Stasicka, J. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. *Environmental Pollution*, 92, 263-283 (2000).
- [7] Kendig, M., Jeanjaquet, S., Addison, R. & Waldrop, J. Role of hexavalent chromium in the inhibition of corrosion of aluminum alloys. *Surf. Coatings Technol.* 140, 58–66 (2001).

- [8] Slodovnik, D., Merimes, D., Trattner, S., Ingber, A. Investigation of the threshold for allergic reactivity to chromium. *Contact Dermatitis*. 44, 70-74 (2000).
- [9] Dhal, B., Das, N. N., Thatoi, H. N. & Pandey, B. D. Characterizing toxic Cr(VI) contamination in chromite mine overburden dump and its bacterial remediation. *J. Hazard. Mater.* 260, 141–149 (2013).
- [10] Brown, E. M. A Conformational Study of Collagen as Affected by Tanning Procedures. *Journal of the American Leather Chemists Association*, 92, 225-233 (1997).
- [11] Gettens, J. R. *Painting Materials: A Short Encyclopaedia*: Courier Dover Publications (1966).
- [12] Ellis, D. I. et al. Fingerprinting food: Current technologies for the detection of food adulteration and contamination. *Chem. Soc. Rev.* 41, 5706–5727 (2012).
- [13] Hingston, J. A., Collins, C. D., Murphy, R. J. & Lester, J. N. Leaching of chromated copper arsenate wood preservatives: A review. *Environ. Pollut.* 111, 53–66 (2001).
- [14] Mercer, T. G. & Frostick, L. E. Leaching characteristics of CCA-treated wood waste: A UK study. *Sci. Total Environ.* 427–428, 165–174 (2012).
- [15] Zayed, A. et al. Linked references are available on JSTOR for this article : *Planta Chromium accumulation , translocation and chemical speciation in vegetable crops*. 206, 293–299 (2020).
- [16] Salatas, J. H., Lowney, Y. W., Pastorok, R. A., Nelson, R. R. & Ruby, M. V. Metals that drive health-based remedial decisions for soils at U.S. Department of Defense sites. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 10, 983–997 (2004).
- [17] Lameiras, J. Quantification of total chromium and hexavalent chromium in UHT milk by ETAAS. *Analyst* 123, 2091–2095 (1998).
- [18] Figueiredo, E., Soares, M. E., Baptista, P., Castro, M. & Bastos, M. L. Validation of an electrothermal atomization atomic absorption spectrometry method for quantification of total chromium and chromium(VI) in wild mushrooms and underlying soils. *J. Agric. Food Chem.* 55, 7192–7198 (2007).
- [19] Chen, S., Zhu, S., He, Y. & Lu, D. Speciation of chromium and its distribution in tea leaves and tea infusion using titanium dioxide nanotubes packed microcolumn coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Food Chem.* 150, 254–259 (2014).

- [20] Soares, M. E., Vieira, E. & De Lourdes Bastos, M. Chromium speciation analysis in bread samples. *J. Agric. Food Chem.* 58, 1366–1370 (2010).
- [21] Vieira, E. et al. Quantification of Total and Hexavalent Chromium in Lager Beers: Variability between Styles and Estimation of Daily Intake of Chromium from Beer. (2014).
- [22] Lendinez, E., Lorenzo, M. L., Cabrera, C. & López, M. C. Chromium in basic foods of the Spanish diet: Seafood, cereals, vegetables, olive oils and dairy products. *Sci. Total Environ.* 278, 183–189 (2001).
- [23] Proctor, D. M., Otani, J. M., Finley, B. L., Paustenbach, D. J., Bland, J. A., Speizer, N., & Sargent, E. V. Is hexavalent chromium carcinogenic via ingestion? A weight-of-evidence review. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 65(10), 701-746 (2002).
- [24] Milai, R. & Tupar, J. Simultaneous determination of chromium(III) COMPLEXES and CHROMIUM(VI) by fast protein anion-exchange liquid chromatography-atomic absorption spectrometry. *Analyst* 119, 627–632 (1994).
- [25] Коротич В. И., Набойченко С. С., Сотников А. И., Грачев С. В., Фурман Е. Л., Ляшков В. Б. (под ред. В. И. Коротича). Начала металлургии: Учебник для вузов. — Екатеринбург: УГТУ, 2000. — 392 с. — ISBN 5-230-06611-3.
- [26] Циммерман Р., Гюнтер К. Металлургия и материаловедение / Под ред. П. И. Полухина, М. Л. Бернштейна. — Справ. издание. Пер. с нем.. — М.: Металлургия, 1982. — 480 с.
- [27] Q.Y. Chen, A. Murphy, H. Sun, M. Costa, Molecular and epigenetic mechanisms of Cr (VI) - induced carcinogenesis, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 377 (2019) 114636.
- [28] Stasinou, S. & Zabetakis, I. The uptake of nickel and chromium from irrigation water by potatoes, carrots and onions. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 91, 122–128 (2013).
- [29] Oze, C., Fendorf, S., Bird, D. K. & Coleman, R. G. Chromium geochemistry in serpentinized ultramafic rocks and serpentine soils from the Franciscan complex of California. *Am. J. Sci.* 304, 67–101 (2004).
- [30] Prado, F. E., Hilal, M., Chocobar-Ponce, S., Pagano, E., Rosa, M., & Prado, C. Chapter 6 - Chromium and the Plant: A Dangerous Affair? A2 - Ahmad, Parvaiz. In *Plant Metal Interaction*, 149-177 (2016).

- [31] Loubna, E. F., Hafidi, M., Silvestre, J., Kallerhoff, J., Merlina, G., & Pinelli, E. Efficiency of cocomposting process to remove genotoxicity from sewage sludge contaminated with hexavalent chromium. *Ecological Engineering*, 82, 355-360 (2015).
- [32] Utermann, J., Düwel, O., & Nagel, I. Background values in European soils and sewage sludges. Results of a JRC-coordinated study on background values (Part II). In). European Commission DG-JRC., EUR 22265 EN. Luxembourg:Office for Official Publications of the European Communities (2006).
- [33] Ritchie, G. S. P., & Sposito, G. Speciation in Soils. In *Chemical Speciation in the Environment*, 237-264 (2007).
- [34] Jardine, P. M. et al. Influence of soil geochemical and physical properties on chromium(VI) sorption and bioaccessibility. *Environ. Sci. Technol.* 47, 11241–11248 (2013).
- [35] James, B. R., & Bartlett, R. J. Behavior of Chromium in Soils: VII. Adsorption and Reduction of Hexavalent Forms I. *Journal of Environmental Quality*, 12(2) (1983).
- [36] Fendorf, S., Wielinga, B. W. & Hansel, C. M. Chromium transformations in natural environments: The role of biological and abiological processes in chromium(vi) reduction. *Int. Geol. Rev.* 42, 691–701 (2000).
- [37] M. Zhan, H. Yu, L. Li, D.T. Nguyen, W. Chen, Detection of Hexavalent Chromium by Copper Sulfide Nanocomposites, *Anal. Chem.* 91 (2019) 2058–2065.
- [38] J. Ma, Z. Wang, Q. Li, R. Gai, X. Li, On-line separation and preconcentration of hexavalent chromium on a novel mesoporous silica adsorbent with determination by solution-cathode glow discharge-atomic emission spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 29
- [39] Environmental Protection Agency, Toxicological review of trivalent chromium (CAS no. 16065-83-1), in: *Support of Summery Information on the Integrated Risk System (IRIS)*, US Environmental Protection Agency, Washington, DC, 1998.
- [40] Tuzen, M. & Soylak, M. Multiwalled carbon nanotubes for speciation of chromium in environmental samples. *J. Hazard. Mater.* 147, 219–225 (2007).
- [41] Uluozlu, O. D., Tuzen, M., Mendil, D., Kahveci, B. & Soylak, M. 3-Ethyl-4-(p-chlorobenzylidenamino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one (EPHBAT) as precipitant for carrier element free coprecipitation and speciation of chromium(III) and chromium(VI). *J. Hazard. Mater.* 172, 395–399 (2009).



- [42] Narin, I., Kars, A. & Soylak, M. A novel solid phase extraction procedure on Amberlite XAD-1180 for speciation of Cr(III), Cr(VI) and total chromium in environmental and pharmaceutical samples. *J. Hazard. Mater.* 150, 453–458 (2008).
- [43] Saygi, K. O., Tuzen, M., Soylak, M. & Elci, L. Chromium speciation by solid phase extraction on Dowex M 4195 chelating resin and determination by atomic absorption spectrometry. *J. Hazard. Mater.* 153, 1009–1014 (2008).
- [44] Tuzen, M. & Soylak, M. Chromium speciation in environmental samples by solid phase extraction on Chromosorb 108. *J. Hazard. Mater.* 129, 266–273 (2006).
- [45] Karatepe, A., Korkmaz, E., Soylak, M. & Elci, L. Development of a coprecipitation system for the speciation/preconcentration of chromium in tap waters. *J. Hazard. Mater.* 173, 433–437 (2010).
- [46] Zhao, L. yu, Fei, J. jun, Lian, H. zhen, Mao, L. & Cui, X. bing. Development of a novel amine- and carboxyl-bifunctionalized hybrid monolithic column for non-invasive speciation analysis of chromium. *Talanta* 212, 120799 (2020).
- [47] Zhu, Q. yun et al. Speciation analysis of chromium by carboxylic group functionalized mesoporous silica with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta* 195, 173–180 (2019).
- [48] Bulut, V. N., Duran, C., Tufekci, M., Elci, L. & Soylak, M. Speciation of Cr(III) and Cr(VI) after column solid phase extraction on Amberlite XAD-2010. *J. Hazard. Mater.* 143, 112–117 (2007).
- [49] Narin, I., Surme, Y., Soylak, M. & Dogan, M. Speciation of Cr(III) and Cr(VI) in environmental samples by solid phase extraction on Amborsorb 563 resin. *J. Hazard. Mater.* 136, 579–584 (2006).
- [50] Martendal, E., Maltez, H. F. & Carasek, E. Speciation of Cr(III) and Cr(VI) in environmental samples determined by selective separation and preconcentration on silica gel chemically modified with niobium(V) oxide. *J. Hazard. Mater.* 161, 450–456 (2009).
- [51] Aydin, F. A. & Soylak, M. Thulium hydroxide: A new coprecipitant for speciation of chromium in natural water samples. *J. Hazard. Mater.* 162, 1228–1232 (2009).
- [52] Wang, L. L., Wang, J. Q., Zheng, Z. X. & Xiao, P. Cloud point extraction combined with high-performance liquid chromatography for speciation of chromium(III) and chromium(VI) in environmental sediment samples. *J. Hazard. Mater.* 177, 114–118 (2010).

- [53] Alahmad, W., Varanusupakul, P., Kaneta, T. & Varanusupakul, P. Chromium speciation using paper-based analytical devices by direct determination and with electromembrane microextraction. *Anal. Chim. Acta* 1085, 98–106 (2019).
- [54] Wang, J. et al. Landing microextraction sediment phase onto surface enhanced Raman scattering to enhance sensitivity and selectivity for chromium speciation in food and environmental samples. *Food Chem.* 323, 126812 (2020).
- [55] Zeng, C., Lin, Y., Zhou, N., Zheng, J. & Zhang, W. Room temperature ionic liquids enhanced the speciation of Cr(VI) and Cr(III) by hollow fiber liquid phase microextraction combined with flame atomic absorption spectrometry. *J. Hazard. Mater.* 237–238, 365–370 (2012).
- [56] Yousefi, S. M. & Shemirani, F. Selective and sensitive speciation analysis of Cr(VI) and Cr(III) in water samples by fiber optic-linear array detection spectrophotometry after ion pair based-surfactant assisted dispersive liquid-liquid microextraction. *J. Hazard. Mater.* 254–255, 134–140 (2013).
- [57] Moghadam, M. R., Dadfarnia, S. & Haji Shabani, A. M. Speciation and determination of ultra trace amounts of chromium by solidified floating organic drop microextraction (SFODME) and graphite furnace atomic absorption spectrometry. *J. Hazard. Mater.* 186, 169–174 (2011).
- [58] Kiran, K. et al. Speciation determination of chromium(III) and (VI) using preconcentration cloud point extraction with flame atomic absorption spectrometry (FAAS). *J. Hazard. Mater.* 150, 582–586 (2008).
- [59] Liang, P. & Sang, H. Speciation of chromium in water samples with cloud point extraction separation and preconcentration and determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *J. Hazard. Mater.* 154, 1115–1119 (2008).
- [60] Yilmaz, E. & Soylak, M. Ultrasound assisted-deep eutectic solvent based on emulsification liquid phase microextraction combined with microsample injection flame atomic absorption spectrometry for valence speciation of chromium(III/VI) in environmental samples. *Talanta* **160**, 680–685 (2016).
- [61] L.L. Wang, J.Q. Wang, Z.X. Zheng, P. Xiao, Cloud point extraction combined with high-performance liquid chromatography for speciation of chromium(III) and chromium(VI) in environmental sediment samples, *J. Hazard. Mater.* 177 (2010) 114–118.

- [62] J. Wang, W. Ahmad, M. Mehedi Hassan, M. Zareef, A. Viswadevarayalu, M. Arslan, H. Li, Q. Chen, Landing microextraction sediment phase onto surface enhanced Raman scattering to enhance sensitivity and selectivity for chromium speciation in food and environmental samples, *Food Chem.* 323 (2020) 126812.
- [63] E. Yilmaz, M. Soylak, Ultrasound assisted-deep eutectic solvent based on emulsification liquid phase microextraction combined with microsample injection flame atomic absorption spectrometry for valence speciation of chromium(III/VI) in environmental samples, *Talanta.* 160 (2016) 680–685.
- [65] K. Xu, Y. Wang, Y. Huang, N. Li, Q. Wen, A green deep eutectic solvent-based aqueous two-phase system for protein extracting, *Anal. Chim. Acta.* 864 (2014) 9–20.
- [66] Shishov, A., Bulatov, A., Locatelli, M., Carradori, S. & Andruch, V. Application of deep eutectic solvents in analytical chemistry. A review. *Microchem. J.* 135, 33–38 (2017).
- [67] A. Shishov, N. Volodina, D. Nechaeva, S. Gagarinova, A. Bulatov, Deep eutectic solvents as a new kind of dispersive solvent for dispersive liquid-liquid microextraction, *RSC Adv.* 8 (2018) 38146–38149.
- [68] A. Shishov, P. Terno, L. Moskvina, A. Bulatov, In-syringe dispersive liquid-liquid microextraction using deep eutectic solvent as disperser: Determination of chromium (VI) in beverages, *Talanta.* 206 (2020) 120209.
- [69] A. Shishov, A. Pochivalov, L. Nugbienyo, V. Andruch, A. Bulatov, Deep eutectic solvents are not only effective extractants, *TrAC Trends Anal. Chem.* (2020) 115956.
- [70] C.M.A. Brett, Deep eutectic solvents and applications in electrochemical sensing, *Curr. Opin. Electrochem.* 10 (2018) 143–148.
- [71] Tan Ting, Qiao Xin, Wan Yiqun, Qiu Hongdeng, Deep eutectic solvent: a new kind of mobile phase modifier for hydrophilic interaction liquid chromatography, *Chinese Journal of Chromatography* (2015) 934-937.
- [72] G. Li, T. Zhu, K.H. Row, Isolation of Ferulic Acid from Wheat Bran with a Deep Eutectic Solvent and Modified Silica Gel, *Anal. Lett.* 50 (2017) 1926–1938.
- [73] Y.L. Chen, X. Zhang, T.T. You, F. Xu, Deep eutectic solvents (DESs) for cellulose dissolution: a mini-review, *Cellulose.* 26 (2019) 205–213.

- [74] R. Germani, M. Orlandini, M. Tiecco, T. Del Giacco, Novel low viscous, green and amphiphilic N-oxides/phenylacetic acid based Deep Eutectic Solvents, *J. Mol. Liq.* 240 (2017) 233–239.
- [75] B. Hashemi, P. Zohrabi, S. Dehdashtian, Application of green solvents as sorbent modifiers in sorptive-based extraction techniques for extraction of environmental pollutants, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 109 (2018) 50–61.
- [76] A. Shishov, D. Nechaeva, A. Bulatov, HPLC-MS/MS determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in bovine milk based on simultaneous deep eutectic solvents formation and its solidification, *Microchem. J.* 150 (2019) 104080.
- [77] M. Soylak, M. Koksall, Deep eutectic solvent microextraction of lead(II), cobalt(II), nickel(II) and manganese(II) ions for the separation and preconcentration in some oil samples from Turkey prior to their microsampling flame atomic absorption spectrometric determination, *Microchem. J.* 147 (2019) 832–837.
- [78] A.G. Solaesa, J.O. Fernandes, M.T. Sanz, Ó. Benito-Román, S.C. Cunha, Green determination of brominated flame retardants and organochloride pollutants in fish oils by vortex assisted liquid-liquid microextraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry, *Talanta.* 195 (2019) 251–257.
- [79] J.J. Li, H. Xiao, X.D. Tang, M. Zhou, Green Carboxylic Acid-Based Deep Eutectic Solvents as Solvents for Extractive Desulfurization, *Energy and Fuels.* 30 (2016) 5411–5418.
- [80] T. Křížek, M. Bursová, R. Horsley, M. Kuchař, P. Tůma, R. Čabala, T. Hložek, Menthol-based hydrophobic deep eutectic solvents: Towards greener and efficient extraction of phytocannabinoids, *J. Clean. Prod.* 193 (2018) 391–396.
- [81] A. Shishov, R. Chromá, C. Vakh, J. Kuchár, A. Simon, V. Andruch, A. Bulatov, In situ decomposition of deep eutectic solvent as a novel approach in liquid-liquid microextraction, *Anal. Chim. Acta.* 1065 (2019) 49–55. doi:10.1016/j.aca.2019.03.038.
- [82] C. Florindo, L.C. Branco, I.M. Marrucho, Development of hydrophobic deep eutectic solvents for extraction of pesticides from aqueous environments, *Fluid Phase Equilib.* 448 (2017) 135–142.

- [83] D.J.G.P. Van Osch, L.F. Zubeir, A. Van Den Bruinhorst, M.A.A. Rocha, M.C. Kroon, Hydrophobic deep eutectic solvents as water-immiscible extractants, *Green Chem.* 17 (2015) 4518–4521.
- [84] Ji Y., Zhao M., Li A., Zhao L. Hydrophobic deep eutectic solvent-based ultrasonic-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for preconcentration and determination of trace cadmium and arsenic in wine samples. *Microchemical Journal.* 164 105-974 (2021).
- [85] Liu, R. et al. Extraction of platinum(IV) by hydrophobic deep eutectic solvents based on trioctylphosphine oxide. *Hydrometallurgy* 199, 105521 (2021).
- [86] Sorouraddin, S. M., Farajzadeh, M. A. & Okhravi, T. Application of deep eutectic solvent as a disperser in reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction for the extraction of Cd(II) and Zn(II) ions from oil samples. *J. Food Compos. Anal.* 93, 103590 (2020).
- [87] Spathariotis, S. et al. Separation of iron(iii), zinc(ii) and lead(ii) from a choline chloride-ethylene glycol deep eutectic solvent by solvent extraction. *RSC Adv.* 10, 33161–33170 (2020).
- [88] Werner, J. Ligandless, deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction with solidification of the aqueous phase for preconcentration of lead, cadmium, cobalt and nickel in water samples. *J. Sep. Sci.* 43, 1297–1305 (2020).
- [89] Fasihi, M., Rajabi, M., Barfi, B. & Sajjadi, S. M. Efficacious and environmentally friendly deep eutectic solvent-based liquid-phase microextraction for speciation of Cr(III) and Cr(VI) ions in food and water samples. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* (2020). doi:10.1080/03067319.2020.1784408
- [90] Thongsaw, A., Udnan, Y., Ross, G. M. & Chaiyasith, W. C. Speciation of mercury in water and biological samples by eco-friendly ultrasound-assisted deep eutectic solvent based on liquid phase microextraction with electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta* 197, 310–318 (2019).
- [91] Ola, P. D. & Matsumoto, M. Use of deep eutectic solvent as extractant for separation of Fe (III) and Mn (II) from aqueous solution. *Sep. Sci. Technol.* 54, 759–765 (2019).
- [92] Habibollahi, M. H. et al. Extraction and determination of heavy metals in soil and vegetables irrigated with treated municipal wastewater using new mode of dispersive

liquid–liquid microextraction based on the solidified deep eutectic solvent followed by GFAAS. *J. Sci. Food Agric.* 99, 656–665 (2019).

[93] Ezoddin, M., Lamei, N., Siami, F., Abdi, K. & Karimi, M. A. Deep Eutectic Solvent Based Air Assisted Ligandless Emulsification Liquid–Liquid Microextraction for Preconcentration of Some Heavy Metals in Biological and Environmental Samples. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 101, 814–819 (2018).

[94] Akramipour, R., Golpayegani, M. R., Gheini, S. & Fattahi, N. Speciation of organic/inorganic mercury and total mercury in blood samples using vortex assisted dispersive liquid-liquid microextraction based on the freezing of deep eutectic solvent followed by GFAAS. *Talanta* 186, 17–23 (2018).

[95] Matong, J. M., Nyaba, L. & Nomngongo, P. N. Determination of As, Cr, Mo, Sb, Se and V in agricultural soil samples by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after simple and rapid solvent extraction using choline chloride-oxalic acid deep eutectic solvent. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 135, 152–157 (2017).

[96] Habibi, E., Ghanemi, K., Fallah-Mehrjardi, M. & Dadolahi-Sohrab, A. A novel digestion method based on a choline chloride-oxalic acid deep eutectic solvent for determining Cu, Fe, and Zn in fish samples. *Anal. Chim. Acta* 762, 61–67 (2013).

[97] Meneses, D., Júnior, J. G. F. & de Oliveira, P. C. C. FIA-coupled spectrophotometric method for determination of Cr (VI) traces in natural waters: application of in-line dissolution of 1,5-diphenylcarbazide after heat treatment and activated alumina as adsorbent for preconcentration. *Environ. Monit. Assess.* 190, (2018).

[98] Prasada Rao, T., Karthikeyan, S., Vijayalekshmy, B. & Iyer, C. S. P. Speciative determination of chromium(VI) and chromium(III) using flow-injection on-line preconcentration and flame atomic-absorption spectrometric detection. *Anal. Chim. Acta* 369, 69–77 (1998).

[99] Colica, G., Mecarozzi, P. C. & De Philippis, R. Biosorption and recovery of chromium from industrial wastewaters by using *saccharomyces cerevisiae* in a flow-through system. *Ind. Eng. Chem. Res.* 51, 4452–4457 (2012).

[100] Kim, M. L., Stripeikis, J. D. & Tudino, M. B. Hybrid mesoporous materials for on-line preconcentration of Cr(VI) followed by one-step scheme for elution and colorimetric determination at ultratrace levels. *Talanta* 77, 1068–1074 (2009).

- [101] Beinrohr, E., Manová, A. & Dzurov, J. Preconcentration of Cr(III) and total Cr in waters for flame AAS in a flow-through electrochemical/sorption cell. *Fresenius. J. Anal. Chem.* 355, 528–531 (1996).
- [102] Souza, I. G. et al. On-line electrolytic dissolution of alloys in flow-injection analysis. Part 3. Multi-elemental analysis of stainless steels by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 245, 211–216 (1991).
- [103] Yoshimura, K. Application of ion-exchanger phase absorptiometry to flow analysis. determination of trace amounts of chromium(VI) in water. *Analyst* 113, 471–474 (1988).
- [104] R. Borštnar, A.R. Choudhury, J. Stare, M. Novič, J. Mavri, Calculation of pKa values of carboxylic acids: application to bilirubin, *J. Mol. Struct. Theochem.* 947 (2010) 76–82.
- [105] Y. Zhang, H.K. Lee, Determination of ultraviolet filters in water samples by vortexassisted dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 1249 (2012) 25–31.
- [106] N. Khan, I.S. Jeong, I.M. Hwang, J.S. Kim, S.H. Choi, E.Y. Nho, et al., Method validation for simultaneous determination of chromium, molybdenum and selenium in infant formulas by ICP-OES and ICP-MS, *Food Chem.* 141 (2013) 3566–3570.
- [107] Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю). Утверждены Решением Комиссии таможенного союза от 28 мая 2010 года N 299.
- [108] Приказ Министерства сельского хозяйства Российской Федерации от 13 декабря 2016 года № 552 Об утверждении нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения (с изменениями на 10 марта 2020 года).