

На конкурс «Премия ВОИР-2019»

**Способ извлечения органических
веществ из водных сред
экстракционным вымораживанием в
поле центробежных сил**

Бехтерев В.Н.
доктор химических наук

vic-bekhterev@yandex.ru

Сочи - 2019

Необходимость экстракции в химическом анализе и технологии продиктована:

- концентрированием целевых компонентов и мешающим присутствием эндогенных органических веществ в биопробах (пептиды, сахара, стероиды, пигменты, их низкомолекулярные продукты метаболизма и пр.), в объектах окружающей среды (гуминовые вещества, нефтепродукты и др.), или в промышленной продукции, в т.ч. фармацевтической и пищевой (исходные компоненты, побочные полупродукты);
- возможным присутствием в объектах исследования экзогенных химических веществ, например, продуктов биотрансформации компонентов пищи, лекарственных средств, и др. ксенобиотиков;
- снижением предела обнаружения целевых компонентов, т.е. повышением чувствительности анализа.

Методы извлечения и концентрирования целевых компонентов (аналитов) :

- прямое концентрирование (упаривание некоторого количества мочи на вакуумно-ротационном испарителе или лиофилизация);
- перегонка с водяным паром;
- газовая экстракция (ГЭ), анализ равновесного пара (АРП, ПФА, HSA);
- жидкостная экстракция (ЖЭ, ЖЖЭ, LE) органическим растворителем из биологического объекта (в случае внутренних органов, обычно, с последующей переэкстракцией в другой растворитель для удаления соэкстрактивных веществ);
- сорбция и твердофазная экстракция (ТФЭ, SPE, QuEChERS, VetexQ);
- экстракционное вымораживание (ЭВ, ЭВЦ);
- парофазная экстракция (ПФЭ).

Цель: эффективнее, быстрее,
безопаснее, дешевле, проще.

Новый подход к экстракции -
формирование границы раздела фаз
непосредственно в пробе
(фазообразование):

**Патенты РФ № 2303476/2007,
№ 2296716/2007, № 2564999/2015**

Экстракционное вымораживание

Bekhterev V.N. Mendeleev Comm., 2007, vol. 17(P.241-243)

Анализируемый
водный раствор

Гидрофильный
экстрагент/растворитель



охлаждение



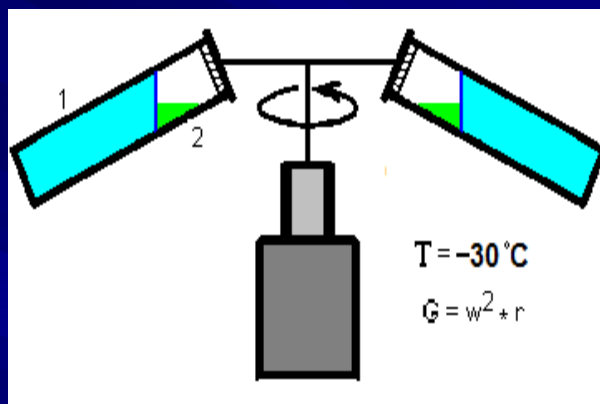
лёд

экстракт
жидкая фаза
органического
растворителя

Способ извлечения органических веществ из водных сред экстракционным вымораживанием в условиях действия поля центробежных сил

Бехтерев В.Н. Журнал физической химии, 2016, Т.90(10), С.1558-62

2014 – 2015 г.г.



Новое научное направление в химии сепарационных процессов

PATENT COOPERATION TREATY PCT/RU2015/000615

ADVANCE E-MAIL From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

INFORMATION CONCERNING ELECTED OFFICES NOTIFIED OF THEIR ELECTION

(PCT Article 31(7) and Rule 61.3)

Date of mailing (day/month/year) 06 April 2017 (06.04.2017)	Applicant's or agent's file reference	
International application No. PCT/RU2015/000615	International filing date (day/month/year) 28 September 2015 (28.09.2015)	Priority date (day/month/year)
Applicant BEKHTEREV, Viktor Nikolaevich		

IMPORTANT INFORMATION

1. The applicant is hereby informed that the International Bureau has, according to Article 31(7), notified each of the following Offices of its election:

EP: AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR
National: BG, BR, CA, CL, CN, CZ, DE, IR, JP, KP, KR, MN, MY, NO, PA, PE, PL, QA, RO, RW, SA, SK, TH

2. The following Offices have waived the requirement for the notification of their election; the notification will be sent to them by the International Bureau only upon their request:

AP: BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW
EA: AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM
OA: BF, BI, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG
National: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BH, BR, BW, BY, BZ, CH, CO, CR, CU, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KN, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MW, MX, MY, NA, NG, NI, NZ, OM, PG, PH, PT, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SI, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

3. Since the election(s) was (were) made before the expiration of 19 months from the priority date, the applicant is reminded that he must enter the "national phase" before the expiration of 30 months from the priority date before each of the Offices listed above. This must be done by paying the national fees and furnishing, if provided, a translation of the international application (Article 17(1)(a)), as well as, where applicable, by furnishing a translation of any annexes of the international preliminary report on patentability (Chapter II of the Patent Cooperation Treaty) (Article 36(1)(b) and Rule 24.1).

Some Offices have fixed time limits expiring later than the above-mentioned time limit. See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the PCT Applicant's Guide/Volume II, National Chapters, the PCT Newsletter and the WIPO Internet site, updated regularly.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 91 70 Form PCT/IB/332 (January 2004)	Authorized officer Athina Nickitas-Etienne e-mail: pct.romania@wipo.int
---	---

Лабораторная установка (устройство) для реализации способа ЭВ в поле центробежных сил

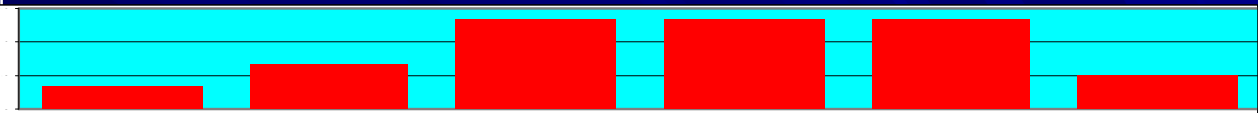
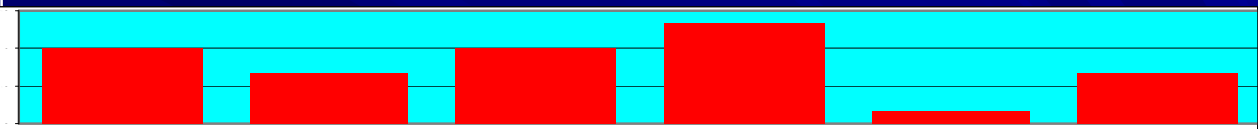
(Бехтерев В.Н. Патент РФ № 2564999/2015, РСТ/RU2015/000615 от 28.09.2015)



выпускаемое изделие
совместно с НПФ
«Мета-хром»

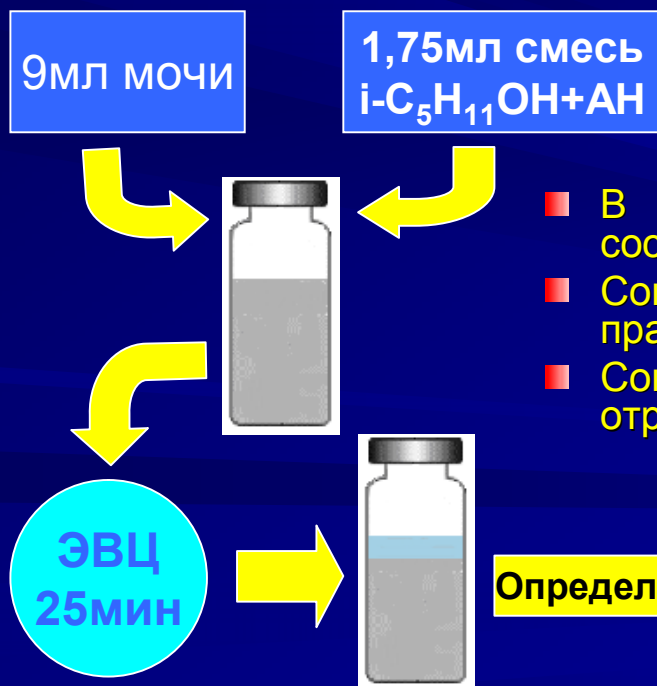
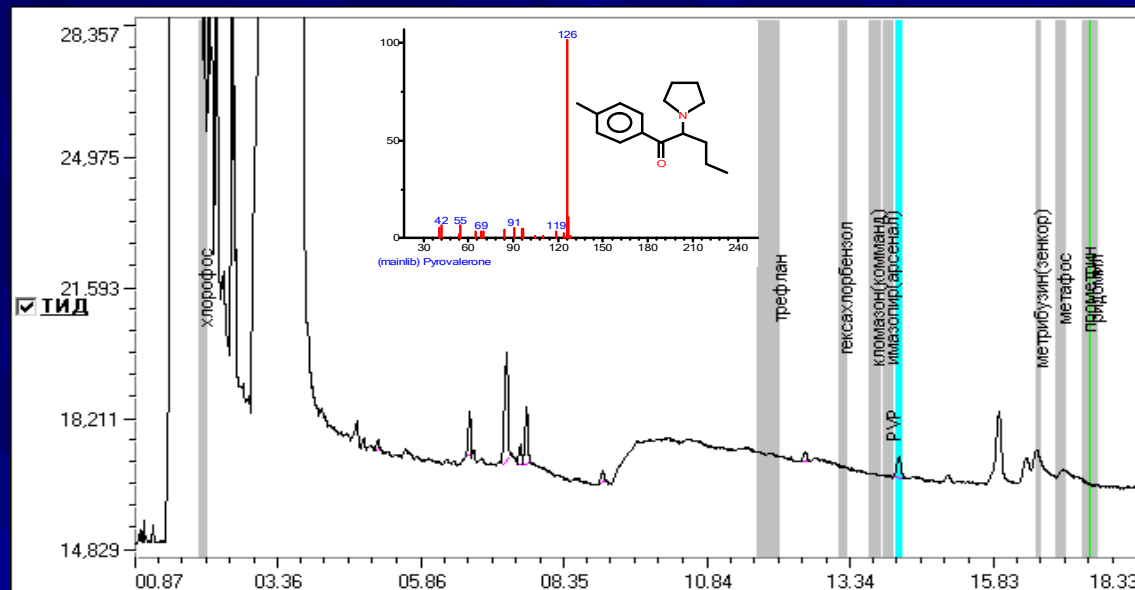


Сравнение методов концентрирования фенолов и карбоновых кислот

	ГЭ	ЖЭ	ТФЭ	ННК	ЭВЦ	ПФЭ
Эффективность, степень извлечения						
Стоимость, трудоемкость						
Селективность	Нет	Да	Да	Нет	Да	Да
Водорастворимый экстрагент	—	Ослож.	—	—	Да	Да
Анализ дисперсных растворов	Да	Ослож.	Нет	Нет	Да	Да
Устранение ионного фона	Да	Да	Да*	Нет	Да	Да
Квалификация персонала	Сред.	Сред.	Сред.	Высок.	Миним.	Сред.

Экспресс ГХ-определение пировалерона (PVP, дизайнерские наркотики) в моче с помощью ЭВЦ (Бехтерев В.Н....Судебно-медицинская экспертиза. 2017. №3, с.27-31)

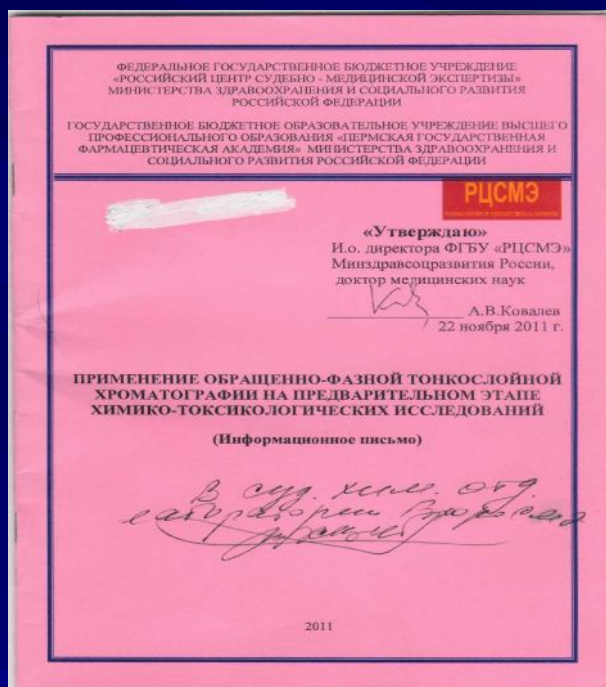
- Степень концентрирования PVP ($C_{\text{орг}}/C_{\text{б.ж.}} = 9,4 \pm 0,1$)
Степень извлечения $R \approx 100\%$
- Хроматограф
Кристаллюкс 4000M с ТИД/Н
- Предел обнаружения в моче
1 мкг/мл
- **Время анализа менее 1 час!!!**



- В масштабах РФ в системе Бюро СМЭ ежегодная экономия составит более **37,5 млн.руб.** (около 170 лабораторий);
- Сокращение времени анализа повысит эффективность работы правоохранительных органов России;
- Сокращение времени анализа позволит быстро выявить причину отравления и спасти жизнь пациенту.

- Стоимость затрат на реактивы составляет **1,3 руб.**, что дешевле используемого метода **VetexQ** более, чем в **130 раз!!!**
- **Импортозамещение!!!**

Методика ВЭЖХ-определения 1,4-бензодиазепинов в моче с помощью ЭВ внедрена в практику химико-токсикологических лабораторий



чения извлечения далее была
1 раствор хлористоводородной
сле отделения водной фазы и
катору проводили экстракцию
5 минут). Органическую фазу
фильтр с безводным натрия
и в токе теплого воздуха до
а в 100 мкл органического
кую пластину. Параллельно на
их растворов анализируемых

цеств биологической жидкости
менением ЖЖЭ, значительно
нений методом ОФ ТСХ (табл.
ис альтернативных вариантов

ПРОСМОТРЕНЫ

Экстракционное вымораживание биологической жидкости

Бехтерев В.Н. и соавт. [1] рассмотрели вариант экстракционного вымораживания для производных 1,4-бензодиазепина. В основе этого метода лежит способ извлечения органических веществ из водных сред путем экстракции в сочетании с вымораживанием. В представленной работе в качестве аналитов были рассмотрены производные 1,4-бензодиазепина и фенотиазина.

Пробу мочи в количестве 8 мл помещали во флакон емкостью 15 мл, добавляли 2 мл диэтилового эфира, герметично закрывали и тщательно перемешивали. Во флакон добавляли 0,4 мл ацетонитрила и, закрыв флакон, помещали его в морозильную камеру холодильника (температура -18—-22 °С) для вымораживания водной части полученной смеси. После образования в нижней части флакона твердой фазы льда выделившийся верхний жидкий

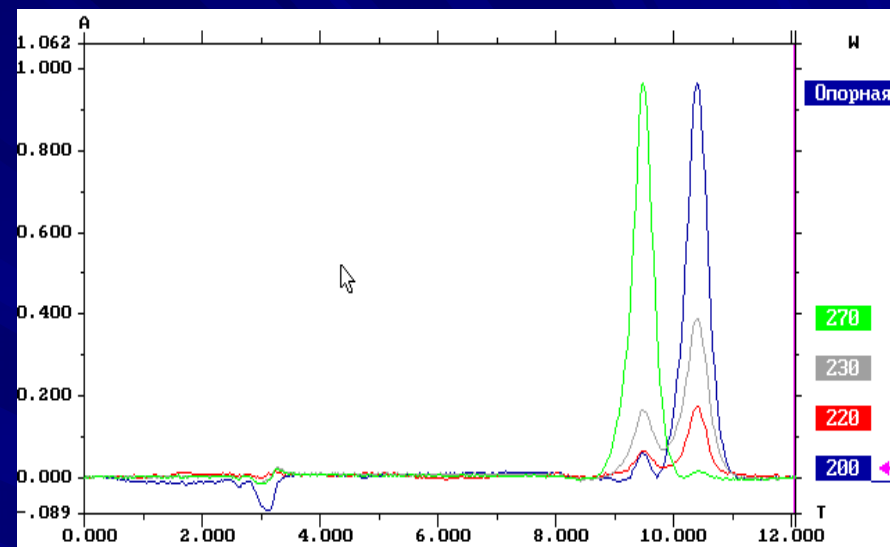


- Годовой экономический эффект Сочинского бюро СМЭ в 2005г. составил 37,7 тыс.руб.
- В масштабах РФ, даже без учета лабораторий ЛПУ и ведомственных учреждений (ФМБА, МО и др.), в системе СМЭ можно ожидать ежегодной экономии около 6,5 млн.руб. (170 лабораторий).

Определение консервантов (сорбиновой и бензойной кислот) в масложировых эмульсиях

(Бехтерев В.Н....Прикладная аналитическая химия. 2014, №1, С. 10-14)

- Степень извлечения СК – $91 \pm 4\%$, БК – $79 \pm 4\%$.
- Хроматограф Милихром-4(УФ); колонка C18(5 мкм) длиной 120 мм внутренним диаметром 2 мм; элюент – смесь изопропанола с фосфатным буфером 1:2 (по объему); скорость подачи элюента 100 мкл/мин; объем вводимой пробы 5-10 мкл.
- Предел обнаружения бензойной (200 нм) и сорбиновой (270 нм) в маргарине, сливочном масле майонезе и наполнителе для тортов – 20 мг/кг (дозირуемый объем 10 мкл).
- Относительная погрешность определения не превышает 12 % в диапазоне концентраций 150 – 250 мкг/мл.



3мл смеси
толуол+АН

0,5г пробы

5мл водн.КОН (рН12)

ВЭЖХ

✓ В разработке методы ЭВЦ
определения антибиотиков,
пестицидов и раститель-
ных жиров в пищевой
продукции



ЭВ



аналит

центрифуга

Лабораторный тех. регламент выделения сапонинов иглицы понтийской (лат. *Ruscus ponticus*) методом ЭВЦ для БАД (Гос.контракт ФМБА России № 129.002.16.14/2016)

- Навеска 50г. из воздушно-сухой массы корней и корневища Иглицы
- Получено $0,5 \pm 0,1$ г. сухого экстракта
- Содержание сапонинов увеличено в 10-12 раз в сравнении традиционной технологией



ОСНОВНЫЕ ПРЕИМУЩЕСТВА СПОСОБА :

- экспрессность стадии экстракции, предварительной подготовки пробы к физико-химическому исследованию – длительность не превышает 25 минут;
- значительное улучшение экономических показателей (минимальное количество экстрагента и химической посуды, манипуляций) при использовании вместо жидкостной и твердофазной экстракции, в т.ч. QuEChERS или VetexQ Tox (прямое импортозамещение);
- степень концентрирования и эффективность извлечения органических соединений из воды, превосходят традиционную жидкостную экстракцию;
- появилась возможность применения водорастворимых экстрагентов без дополнительной химической модификации пробы;
- получаемые экстракты не содержат воды и дисперсных частиц, даже при использовании ацетонитрила – содержание влаги менее 4%;
- позволяет извлекать целевые вещества из дисперсных систем, в т.ч. сильно загрязненных, напрямую без каких-либо дополнительных операций, например, фильтрования и пр.;
- Получаемые экстракты совместимы с обращенно-фазным режимом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и газовой хроматографией (ГХ);
- при исследовании биологических проб в сочетании с газовой хромато-масс-спектрометрией (ГХ-МС) значительно сокращается количество эндогенных соэкстрактивных веществ, что существенно улучшает идентификацию, снижает загрязнение детектора и увеличивает срок его эксплуатации между фазами необходимого технического обслуживания;
- управление избирательностью экстракции осуществляется варьированием экстрагента, pH среды и условий проведения процедуры ЭВЦ;
- незаменим при исследовании термолабильных органических веществ;
- улучшает условия труда и технику безопасности, значительно уменьшая летучесть токсичных растворителей и извлекаемых веществ;
- метод простой в исполнении и не предъявляет никаких дополнительных требований к квалификации оператора.