

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи



ПУШКАРЕВА ТАТЬЯНА ИВАНОВНА

**АНАЛИТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОКИСЛЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ
СОЕДИНЕНИЙ КИСЛОРОДОМ ВОЗДУХА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ**

Специальность 02.00.02 – АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Санкт-Петербург-2019

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Научный руководитель	Зенкевич Игорь Георгиевич доктор химических наук, профессор ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»
Официальные оппоненты:	Платонов Игорь Артемьевич доктор технических наук, профессор ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева» Созин Андрей Юрьевич кандидат химических наук, старший научный сотрудник ФГБУН «Институт химии высокочистых веществ им. Г.Г. Девярых»
Ведущая организация:	ФГБУН «Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина» РАН

Защита диссертации состоится 20 февраля 2020 года в 10 часов 00 минут на заседании диссертационного совета Д 212.166.08 по химическим наукам, созданном при ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» по адресу: 603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23.

С диссертацией можно ознакомиться на сайте www.diss.unn.ru/947 и в Фундаментальной библиотеке ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

Автореферат разослан «__» _____ 2019 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета Д 212.166.08

 /к. х. н. Буланов Е.Н./

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ

Актуальность темы. Определение следов техногенных органических соединений (экотоксикантов) в различных объектах окружающей среды (атмосферный воздух, водные среды, почвы и другие) – важнейшая задача современной аналитической химии. Однако во всех средах первичные загрязнители подвергаются различным химическим трансформациям, что приводит к образованию вторичных метаболитов, многие из которых оказываются не менее опасными (токсичными), чем исходные поллютанты и также требуют аналитического контроля. Поскольку практически все объекты окружающей среды находятся в контакте с атмосферой, основным типом превращений экотоксикантов являются реакции окисления с участием кислорода атмосферного воздуха.

Окислительно-восстановительные реакции, наряду с гидролизом и кислотно-основными превращениями, составляют большую группу химических реакций, происходящих в окружающей среде. Механизмы окисления органических соединений очень разнообразны. В реакциях окисления может участвовать как молекулярный кислород, так и его более реакционноспособные формы (пероксикислоты, пероксиды); процессы часто ускоряются при воздействии света, температуры или ионов металлов. Биогенное окисление представляет собой ферментативные процессы, в основном, под воздействием ферментов группы оксидаз.

Атмосфера Земли обладает огромным окислительным потенциалом (обобщенная характеристика ее способности окислять поступающие из других геосфер органические и неорганические соединения), определяющим скорости окисления не только циркулирующих в естественных биогеохимических циклах восстановленных соединений, но и антропогенных примесей. При этом ключевая роль в окислительных процессах принадлежит не молекулярному кислороду, а различного рода активированным кислородсодержащим частицам, присутствующим в ней в относительно небольших количествах. Такие частицы образуются в реакциях, инициируемых солнечной радиацией, и называются фотооксидантами [В.А. Исидоров, 2001].

Окисление органических соединений может происходить и в почве. Механизм распада органических веществ в почве может быть как абиотическим так и биотическим. Биотическое окисление в почвах происходит при участии микроорганизмов [R. Pal, 2006]. Различные виды микроорганизмов используют различные окислительные реакции и подразделяются на O_2 -аэробов, SO_2 -анаэробов и NO -анаэробов [Г.В. Поруцкий, 1975]. Деструкция органических веществ в почве под влиянием микроорганизмов зачастую приводит к образованию простых минеральных соединений: углекислого газа, воды, аммиака и др.

Окисление природных и техногенных органических соединений в водных средах происходит растворенным кислородом воздуха и представляет собой

один из основных процессов их трансформации. Следовательно, выявление закономерностей таких процессов актуально для характеристики деструкции экотоксикантов в различных объектах окружающей среды.

Окисление органических соединений в водных средах изучено недостаточно из-за необходимости определения гидрофильных соединений (продукты окисления органических соединений) в гидрофильной матрице (вода). Извлечение гидрофильных соединений из водных растворов на стадии подготовки проб отличается трудоемкостью, нередко требует применения дорогостоящих реагентов и характеризуется низкими коэффициентами концентрирования. Применение метода ВЭЖХ-МС позволяет проводить прямое определение аналитов в водных растворах без проведения экстракции. Однако метод ВЭЖХ-МС с ионизацией электрораспылением характеризуется относительно невысокой структурной информативностью, что заставляет рассмотреть новые подходы к интерпретации данных.

Цель и задачи исследования. Цель настоящей работы состоит в установлении закономерностей окисления некоторых органических соединений (алкилфенолы, пестициды, природный флавоноид кверцетин, алкилфосфиты, алкилфосфонаты) кислородом воздуха в водных растворах в близких к нормальным условиям.

Для достижения данной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Идентификация продуктов свободнорадикального окисления органических соединений (4-изопропилфенол, кверцетин) в водных растворах;
2. Выявление аналогий в окислении органических соединений кислородом воздуха в водных растворах и при действии некоторых химических окислителей [хлорид железа (III), реактив Фентона];
3. Идентификация продуктов электрохимического окисления органических соединений (4-изопропилфенол, крезоксим-метил, дифеноконазол) как способ моделирования их свободнорадикального окисления кислородом воздуха;
4. Хроматомасс-спектрометрический анализ смесей продуктов окисления органических соединений (*o*-, *m*-, *p*-крезолы, 4-изопропилфенол, кверцетин крезоксим-метил, дифеноконазол) в режиме ВЭЖХ-МС.

Научная новизна. Установлено что как свободнорадикальное (кислородом воздуха в водных растворах), так и электрохимическое окисление 4-изопропилфенола приводит к образованию димерных и, в общем случае, олигомерных продуктов, что объяснено, промежуточным образованием хинонметидного интермедиата и его взаимодействием с исходным фенолом.

Детальная идентификация продуктов окисления алкилфенолов в водных растворах позволила впервые переосмыслить особенности протекания известной в аналитической химии цветной реакции фенолов с хлоридом железа (III). Входящие в состав первоначально образующихся окрашенных комплексов

молекулы фенолов через некоторое время окисляются с образованием хинонметидных интермедиатов и, далее, набора плохо растворимых в воде олигомерных продуктов.

Аналогия процессов окисления алкилфенолов и окислительной димеризации природных флавоноидов (на примере кверцетина) позволила впервые предложить механизм образования их димеров и олигомеров, часто обнаруживаемых во многих природных объектах.

Впервые охарактеризованы продукты электрохимических превращений двух пестицидов: дифенокназола и крезоксим-метила, рассмотренных как способ моделирования свободнорадикальных процессов. В случае дифенокназола преобладают процессы окисления, связанные с деструкцией 1,3-диоксоланового фрагмента молекулы, но среди продуктов электрохимических превращений крезоксим-метила преобладают продукты его гидролиза и восстановления.

Практическая значимость. Установление механизма и продуктов окисления 4-замещенных алкилфенолов важно для объяснения химических превращений некоторых алкилфенолов (например, 4-октил- и 4-нонил-), являющихся продуктами трансформации неионогенных поверхностно-активных веществ, часто попадающих в сточные и природные воды и обладающих эндокринной токсичностью.

Установление закономерностей превращений кверцетина в условиях свободнорадикального окисления кислородом воздуха в водных растворах, позволяет объяснить детали его антиоксидантной активности.

Идентификация продуктов электролиза пестицидов дифенокназола и крезоксим-метила позволяет предположить пути и продукты их деградации в водных объектах окружающей среды, и, следовательно, прогнозировать их влияние на окружающую среду.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Сходство наборов продуктов свободнорадикального и электрохимического окисления некоторых органических соединений (алкилфенолы, природный флавоноид кверцетин).
2. Результаты хроматомасс-спектрометрической идентификации продуктов окисления алкилфенолов, позволяющие установить механизм их свободнорадикального окисления кислородом воздуха в водных растворах, предполагающий образование хинонметидов в качестве промежуточных интермедиатов и последующее образование димеров и олигомеров.
3. Аналогия состава продуктов окисления алкилфенолов и природных флавоноидов кислородом воздуха в водных растворах позволяет предположить аналогию механизмов их окисления с промежуточным образованием хинонметидных интермедиатов.

4. В результате хроматомасс-спектрометрического анализа продуктов электролиза дифеноконазола и крезоксим-метила было установлено, что в случае дифеноконазола преобладают процессы, связанные с окислением 1,3-диоксоланового фрагмента молекулы, а среди продуктов электрохимических превращений крезоксим-метила преобладают продукты его гидролиза и восстановления.

5. В результате ВЭЖХ-МС анализа показано, что хранение при доступе воздуха реакционных смесей, содержащих диалкилфосфонаты и триалкилфосфиты приводит к почти полному окислению этих производных фосфора (III) с образованием соответствующих производных фосфора (V) – ди- и триалкилфосфатов.

Апробация работы. Результаты работы были доложены на: X Международной конференции «Mendeleev-2017» (4-7 апреля 2017 г., Санкт-Петербург), VII Всероссийской конференции с международным участием «Масс-спектрометрия и её прикладные проблемы» (9-13 октября 2017 г., Москва), конференции молодых ученых «Кинетика и динамика обменных процессов» (28 октября – 5 ноября 2018 г., Сочи).

Публикации. Материалы диссертационной работы опубликованы в 9 статьях в журналах, рекомендованных ВАК РФ и в трёх тезисах в сборниках докладов научных конференций.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 155 страницах, состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, 6 глав обсуждения результатов, выводов и приложения. Содержит 15 таблиц и 29 рисунков. Библиография включает 153 источника.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во Введении дано обоснование актуальности темы диссертационной работы, сформулированы цели и задачи работы.

2-я глава (Обзор литературных данных) включает разделы, посвященные рассмотрению методов идентификации и определения продуктов окисления органических веществ; методов моделирования мягкого окисления органических соединений; закономерностей окисления замещенных фенолов, флавоноидов и пестицидов.

В 3-й главе (Экспериментальная часть) охарактеризованы операции окисления различных органических соединений растворенным кислородом атмосферного воздуха в водных растворах, при действии различных реагентов [хлорид железа (III), реактив Фентона] и в условиях электрохимического окисления, с целью установления состава образующихся продуктов. Приведены условия хроматомасс-спектрометрических анализов и алгоритмы обработки экспериментальных данных, в том числе алгоритмы вычисления индексов удерживания (*RI*) в шкале реперных *n*-алкилфенилкетонов.

Четвертая глава (Обсуждение результатов) включает несколько разделов:

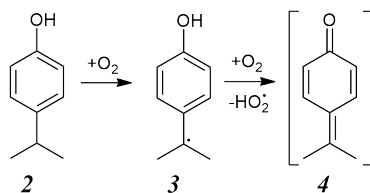
В разделе 4.1 рассмотрены результаты хроматомасс-спектрометрической идентификации продуктов окисления 4-изопропилфенола кислородом воздуха.

В качестве модельного соединения для характеристики процессов свободнорадикального окисления органических соединений, в том числе природного флавоноида кверцетина **1**, кислородом воздуха в водных растворах предпочтительным представляется 4-изопропилфенол **2**, содержащий атом водорода при третичном атоме углерода в α -положении к бензольному кольцу и гидроксильную группу в ядре, обеспечивающую возможность масс-спектрометрического детектирования продуктов окисления в режиме регистрации отрицательно заряженных ионов. Такое соединение представляет самостоятельный интерес, поскольку моделирует поведение таких экотоксикантов как 4-замещенные алкилфенолы (4-октил- и 4-нонил-).

В результате хроматомасс-спектрометрического анализа продуктов окисления 4-изопропилфенола выявлено незначительное число продуктов окисления, существенно меньшее, чем для **1**, что соответствует большей селективности окисления 4-изопропилфенола. Появление продуктов окисления 4-изопропилфенола отмечено только после барботирования воздуха через растворы с $\text{pH} \sim 10$. Таким образом, заметное окисление **2** кислородом воздуха наблюдается лишь при приближении pH раствора к значению pK_a фенола ($\text{pK}_a = 10$).

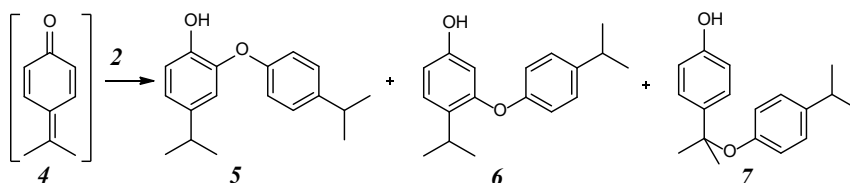
Два гидрофильных компонента с $M = 150 : 136(\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}) - 2(2\text{H}) + 16(\text{O}) = 150(\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_2)$ или $136(\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}) - 2(2\text{H}) + 18(\text{H}_2\text{O}) - 2(2\text{H}) = 150(\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_2)$ принадлежат изомерным продуктам двухстадийного окисления **2**. Теоретически для таких продуктов можно предположить три вероятных структуры: *o*-хиноновую и две хинонметидных. Еще одним компонентом в смеси продуктов окисления 4-изопропилфенола в мягких условиях оказывается гидрофобное соединение с молекулярной массой 270 Да, формально соответствующее димеру $[136(\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}) - 1(\text{H})] \times 2$ (регистрируется только при детектировании отрицательно заряженных ионов). Образование подобного димера в достаточно разбавленных водных растворах ($0.8 - 1.0 \text{ мг/мл} = 5.7 - 7.4 \text{ ммоль/л}$) требует специальных комментариев. Первой стадией взаимодействия **2**, содержащего подвижный атом водорода при третичном атоме углерода, с кислородом является образование свободных радикалов **3**, которые далее могут стабилизироваться с образованием нестабильных промежуточных интермедиатов - хинонметидов **4** (схема 1). Наиболее характерным химическим свойством хинонметидов является присоединение нуклеофильных реагентов.

Схема 1



Водные растворы 4-изопропилфенола содержат два потенциальных нуклеофильных реагента: воду и исходный 4-изопропилфенол **2**. Если нуклеофильным реагентом является **2**, это должно приводить к образованию изомерных продуктов **5**, **6**, а также **7** с $M = 270$ (схема 2).

Схема 2



Поскольку в составе продуктов окисления присутствует лишь один из возможных изомеров с $M = 270$ (схема 2), то уточнение его структуры средствами только хроматомасс-спектрометрического анализа невозможно. Если бы удалось зарегистрировать все изомеры, то их идентификация была бы возможна на основании либо порядка хроматографического элюирования (по увеличению гидрофобности), либо их относительной стабильности (оценки энергий основных состояний), либо обоих критериев в совокупности.

Раздел 4.2 посвящен ВЭЖХ-МС разделению и детектированию продуктов окисления диалкилфосфонатов и триалкилфосфитов в реакционных смесях 1-алканолов с трихлоридом фосфора в присутствии N,N-диметиланилина (для регулирования pH) с целями их обнаружения в составе реакционных смесей (реакционные смеси синтезированы В.Э. Носовой), определения аналитических параметров диалкилфосфонатов и триалкилфосфитов в обращенно-фазовой (ОФ) ВЭЖХ (на примере реакционных смесей 1-бутанола и 1-гептанола с PCl_3).

Поскольку состав реакционных смесей предварительно был определен методом ГХ-МС, то идентификация основных компонентов структурно менее информативным методом ВЭЖХ-МС фактически представляла собой соотнесение набора ожидаемых компонентов с аналитическими параметрами в режиме ОФ ВЭЖХ.

Соотнесение найденных значений m/z с молекулярными массами (M) ожидаемых продуктов взаимодействия 1-бутанола с PCl_3 показывает, что в реакционной смеси присутствуют такие соединения как $(C_4H_9O)_2(C_2H_5O)P+[O]$ и $(C_4H_9O)_3P+[O]$ с молекулярными массами, соответствующими продуктам окисления триалкилфосфитов. Таким образом, причиной невозможности обнаружить ожидаемые продукты взаимодействия представляется их окисление

либо при хранении реакционных смесей в контакте с атмосферным воздухом (наиболее вероятно), либо в процессе анализа, например на стадии электрораспылительной ионизации (менее вероятно).

Продукты окисления эфиров кислот фосфора (III) кислородом воздуха реакционных смесей 1-бутанола и 1-гептанола с PCl_3 при ГХ-МС анализе не были обнаружены. Однако их образование нельзя исключить при хранении образцов в контакте с воздухом. Кроме того, их появление согласуется с применением фосфитов в качестве антиоксидантов.

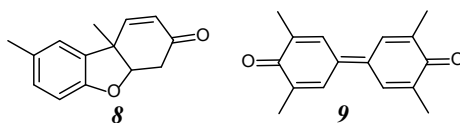
Таким образом, в результате ВЭЖХ-МС анализа реакционных смесей двух 1-алканолов (1-бутанола и 1-гептанола) с трихлоридом фосфора, установлено, что в их составе преобладали продукты окисления производных P(III) до производных P(V), а именно соответствующие триалкилфосфаты $(\text{RO})_3\text{P}=\text{O}$. Это подтверждает окисление производных P(III) кислородом воздуха при их хранении.

В разделе 4.3 рассмотрено хроматомасс-спектрометрическое определение продуктов окисления алкилфенолов хлоридом железа (III).

При действии FeCl_3 , водный раствор фенола приобретает интенсивную красно-фиолетовую окраску, исчезающую в кислой среде. По современным представлениям появление окраски связано с образованием комплексных ионов вида $[\text{Fe}(\text{OAr})_6]^{3-}$ [J.C. Gilbert, 2011]. Это одна из известнейших в аналитической химии цветных реакций, как на фенолы, так и на ионы Fe^{3+} .

С другой стороны, в синтетической органической химии соли железа (III) используют как реагенты для окисления фенолов. Такое окисление часто приводит к димерным продуктам [W. Trahanovski, 2012].

Основному продукту окисления *n*-крезола хлоридом железа (III) приписывают структуру кетона Пуммерера **8** и, например, 2,6-ксиленола – 3,5,3',5'-тетраметилдифениленхинона **9**.



Обращает на себя внимание “неэквивалентность” описаний аналитических и препаративных аспектов действия хлорида железа (III) на фенолы. Однако они не противоречат друг другу: при непосредственном смешении растворов фенолов и FeCl_3 действительно образуются окрашенные продукты, но спустя несколько часов растворы обесцвечиваются и из них выпадают бесцветные осадки продуктов окисления. Задачей настоящей работы является уточнение состава таких продуктов методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС) на примерах *o*-, *m*-, *p*-крезолов и 4-изопропилфенола, что представляет интерес для объяснения образования димерных продуктов окисления природных флавоноидов в водных

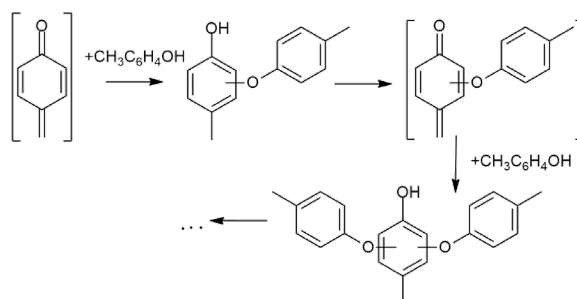
растворах растворенным кислородом воздуха, а также необычных электрохимических реакций фенолов.

Идентификация продуктов окисления *n*-крезола хлоридом железа (III). На хроматограмме продуктов окисления *n*-крезола FeCl_3 по полному ионному току регистрируются шесть основных пиков с индексами удерживания 990, 1151 (максимальный), 1292, 1482, 1596 и 1687.

С учетом результатов окисления 4-изопропилфенола кислородом воздуха и литературных данных среди продуктов окисления фенолов хлоридом железа (III) можно было ожидать присутствия аналогов кетона Пуммерера либо продуктов превращения хинонметидов. Молекулярные массы этих изомерных соединений равны $[2M - 2]$, где M – молекулярная масса исходного фенола.

Для кетона **8** трудно предположить какие-либо приемлемые направления его дальнейших превращений, так как он не содержит активных атомов водорода, в отличие от аддуктов исходного *n*-крезола и промежуточно образующихся хинонметидов. Такие аддукты сохраняют способность к последующему окислению с образованием более сложных хинонметидных интермедиатов, которые снова могут присоединять исходные алкилфенолы. В случае *n*-крезола это позволяет объяснить образование как более гидрофобного продукта с индексом удерживания 1151, так и всех остальных компонентов в результате последовательных циклов «окисление/присоединение исходного *n*-крезола» (схема 3).

Схема 3



В результате молекулярные массы серии олигомерных продуктов взаимодействия *n*-крезола с FeCl_3 оказываются равными $108 - 2 + 108 = 214$ (димер); $214 - 2 + 108 = 320$ (тример); $320 - 2 + 108 = 426$ (тетрамер); $426 - 2 + 108 = 532$ (пентамер) и $532 - 2 + 108 = 638$ (гексамер).

Помимо таких олигомерных продуктов, в реакционных смесях обнаруживаются несколько продуктов с массовыми числами, принадлежащими иным последовательностям значений. Так, один из продуктов окисления *n*-крезола ($M = 442$) образуется в результате окисления тетрамера с последующим присоединением воды: $426 - 2 + 18 = 442$.

Последовательность циклов окисление/присоединение исходного **2**, аналогичная изображенной на схеме 3, приводит к образованию продуктов с молекулярными массами $136 - 2 + 136 = 270$ (димер), $270 - 2 + 136 = 404$

(тример), $404 - 2 + 136 = 538$ (тетрамер) и $538 - 2 + 136 = 672$ (пентамер). Помимо этого среди минорных продуктов окисления обнаружены соединения с молекулярными массами 286, 420, а также $420 - 2 + 136 = 554$. Они представляют собой продукты присоединения воды к димеру ($270 - 2 + 18 = 286$), тримеру ($3 \times 134 + 18 = 420$) и тетрамеру ($4 \times 134 + 18 = 554$) соответственно. Такой состав соответствует наборам продуктов окисления **2** в водных растворах растворенным кислородом воздуха при $pH \approx pKa$.

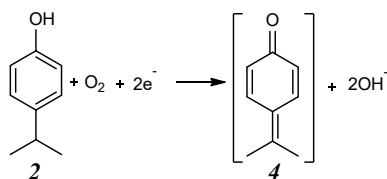
Закономерности формирования состава продуктов окисления *o*- и *m*-крезолов аналогичны рассмотренным на примерах *n*-крезола и 4-изопропилфенола.

Таким образом, на основании результатов идентификации продуктов окисления алкилфенолов хлоридом железа(III) можно утверждать, что их состав аналогичен составу продуктов окисления алкилфенолов кислородом воздуха в водных растворах. Основные из них соответствуют присоединению исходных фенолов к промежуточно образующимся реакционноспособным интермедиатам – хинонметидам.

В разделе 4.4 рассматривается хроматомасс-спектрометрическая идентификация продуктов электрохимического окисления 4-изопропилфенола в водных растворах.

Для многих органических соединений известно, что наборы продуктов свободнорадикального (растворенным кислородом воздуха) и электрохимического окисления во многом сходны, что предопределяет как возможность их сравнения, так и моделирования процессов окисления. По этой причине в качестве дополнения к свободнорадикальному представляется целесообразным рассмотреть электрохимическое окисление **2**. Если первичным интермедиатом и в этом случае является соответствующий хинонметид, то его образование в условиях электрохимического окисления соответствует схеме 4.

Схема 4



В результате ВЭЖХ-МС анализа продуктов окисления 4-изопропилфенола были идентифицированы некоторые соединения в их числе исходный 4-изопропилфенол $RI = 929$, продукт присоединения воды к хинонметиду **4**, которому можно приписать структуру 4-изопропилпирокатехина или 4-изопропилрезорцина ($M = 152$, $RI = 822$), минорный продукт присоединения **2** к хинонметиду – 4-[1-(4-изопропилфенокси)-1-метилэтил]фенол ($M = 270$, $RI = 1097$) и соответствующий главный продукт такого присоединения – 4-изопропил-3-(4-изопропилфенокси)фенол ($M = 270$, $RI = 1266$).

В смеси продуктов электрохимического окисления **2** обнаружены два из трех возможных димерных компонентов с $M = 270$. Это объясняется либо тем, что третий изомер не образуется, либо тем, что два из них обладают одинаковыми параметрами удерживания в выбранном режиме разделения. Для их идентификации энергии основных состояний изомеров **5**, **6** и **7** (схема 2) были оценены методами MM^+ и $AM-1$ (программное обеспечение *HyperChem*), а значения их факторов гидрофобности $\log P$ – с использованием программного обеспечения *ACD*.

На основании полученных данных можно предположить, что минорный изомер **7**, как наиболее гидрофильный ($\log P = 5.1$), должен быть первым по порядку элюирования ($RI = 1097$), а наиболее гидрофобный изомер **5** ($\log P = 6.3$) – последним ($RI = 1266$). Меньшее значение E ($AM-1$) этого изомера соответствует его преобладанию в смеси продуктов окисления. Относительно же изомера **6** можно заметить, что совпадение его параметров удерживания с параметрами удерживания изомера **5** маловероятно из-за *орто*-эффекта заместителей в положении 2. Следовательно, остается признать, что изомер **6** либо не образуется в сопоставимых с другими изомерами количествах при присоединении исходного фенола к хинонметиду **4**, либо по сравнению с ними намного быстрее вступает в последующие реакции.

Смесь продуктов электрохимического окисления **2** содержит три изомерных дигидрокси-(4-изопропилфенокси)изопропилбензола с $M = 286$. Теоретически число таких изомеров равно шести; регистрация меньшего их числа, как и выше, объясняется либо неодинаковыми вероятностями их образования, либо совпадением параметров удерживания некоторых из них. Они могут образовываться в результате присоединения воды к продуктам последующего окисления димеров **5** и **6** (но не **7**, так как этот продукт не содержит атома водорода в заместителе в α -положении к ароматической системе). И, наконец, в составе продуктов зафиксированы семь соединений с $M = 420$, представляющие собой изомерные дигидрокси-*бис*-(4-изопропилфенокси)изопропилбензолы, образующиеся в результате нескольких циклов «окисление – присоединение нуклеофильных реагентов». Последний зарегистрированный компонент с $M = 404$ соответствует одному из изомерных 4-изопропил-*бис*-(4-изопропилфенокси)фенолов.

Часть нашей работы посвящена установлению некоторых закономерностей окисления кверцетина, реализуемых в условиях свободно-радикального окисления кислородом воздуха в водных растворах, что является логическим следствием характеристики продуктов окисления 4-изопропилфенола, поэтому **в разделе 4.5.1** рассмотрены результаты хроматомасс-спектрометрической идентификации низкомолекулярных продуктов окисления кверцетина **1**.

Смесь продуктов окисления кверцетина содержит несколько десятков компонентов. Метод ВЭЖХ-МС не обладает достаточной информативностью для установления структур таких продуктов на основании непосредственно

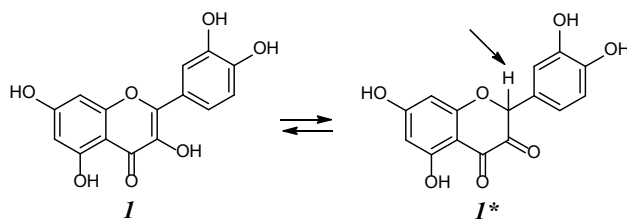
определяемых аналитических данных. По этой причине для идентификации был использован известный, но ранее не рассматривавшийся в качестве самостоятельного алгоритма прием – систематизация структур ранее установленных продуктов окисления и соотнесение их с пиками на хроматограмме по значениям молекулярных масс, наиболее характеристических сигналов масс-спектров и последовательности элюирования. Для предсказания последовательности элюирования использовали значения факторов гидрофобности ($\log P$), вычисляемых с использованием разных ПО. В результате такого подхода структуры некоторых продуктов окисления кверцетина установлены однозначно, что и позволяет судить о механизмах происходящих процессов.

В результате окисления кверцетина кислородом воздуха в водных растворах в слабощелочной среде ($\text{pH} \sim 8\text{--}9$) в присутствии этанола (для увеличения растворимости), хроматомасс-спектрометрического анализа продуктов реакции и систематизации литературных сведений об известных продуктах окисления для сопоставления с нашими данными, были установлены основные продукты реакции. Подтверждено, что многие из продуктов окисления кверцетина относятся к таким классам органических соединений как: кетали, полукетали и пероксиды, стабильны только в растворах и, следовательно, не могут быть выделены из водных растворов.

Два основных обсуждаемых в литературе механизма окисления кверцетина предполагают промежуточное образование соединений с тривиальными названиями «депсид» и «алфитонин». Впервые установлено их совместное присутствие в составе продуктов, но отмечена их различная устойчивость и время жизни в растворах.

В разделе 4.5.2 рассмотрено моделирование механизма образования димерных и олигомерных продуктов окисления флавоноидов с использованием результатов окисления 4-изопропилфенола в водных растворах.

Известные схемы окисления наиболее распространенного природного флавоноида кверцетина **1** в качестве первой стадии предполагают окисление атома водорода в положении 2 пиранового фрагмента его таутомерной формы **1*** (схема 5). Среди выявленных продуктов окисления присутствуют малостабильные пероксиды и гидропероксиды, нестабильные полукетали, гидратные и енольные формы, препаративное выделение которых из водных растворов практически невозможно. Кроме того, в смесях продуктов окисления флавоноидов даже при их крайне малых концентрациях в водных растворах часто присутствуют димеры и тримеры, механизмы образования которых оставались дискуссионными до последнего времени. Это определило целесообразность характеристики процессов окисления более простых модельных соединений в аналогичных условиях.

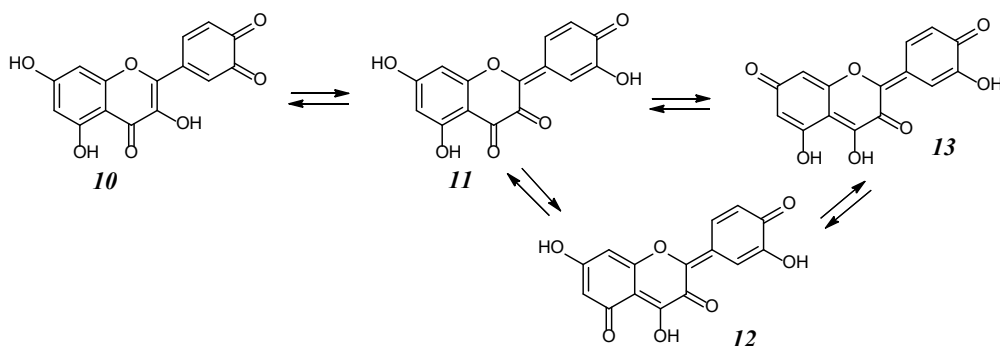


Одной из наиболее интересных особенностей продуктов окисления флавоноидов в водных растворах даже при низких концентрациях оказывается образование димеров с молекулярными массами $(2M - 2)$, где M – молекулярная масса исходного флавоноида (для кверцетина $2 \times 302 - 2 = 602$ Да), тримеров и более сложных олигомеров.

Несколько димеров и тримеров обнаружено в составе продуктов окисления **1** кислородом воздуха в водном растворе ($0.1 \text{ мг/мл} \gg 0.3 \text{ мМ/л}$) при $\text{pH} = 8$. При МАЛДИ-МС анализе осадка, образовавшегося при окислении кверцетина кислородом воздуха были обнаружены продукты олигомеризации кверцетина с молекулярными массами до 1500 Да, но их структуры таким способом не были установлены.

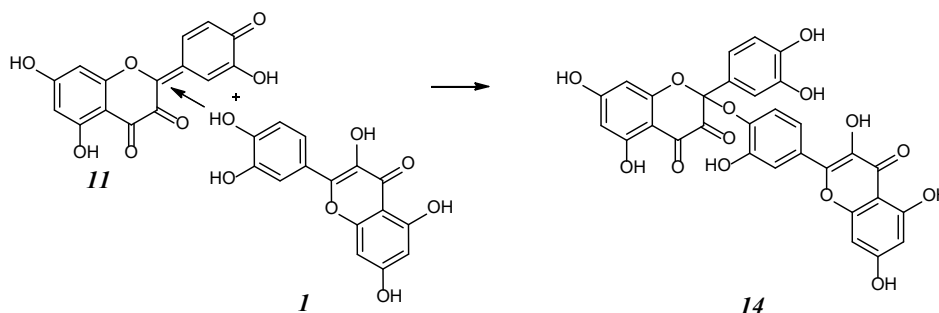
Одним из направлений превращений радикальных интермедиатов окисления **1**, образующихся из его таутомерной формы **1*** (Схема 1), считают образование о-хинона **10** (схема 6):

Схема 6

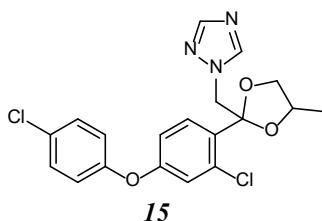


Такой хинон **10** может находиться в прототропном равновесии как минимум с тремя таутомерами, имеющими структуры так называемых хинонметидов кверцетина 3 – **11**, 5 – **12** и 7 – **13** (схема 6). Сравнение оценок энергий основных состояний этих хинонметидов методами молекулярной механики (ММ^+) и полуэмпирическим методом (АМ-1) показывает, что предпочтительной структурой является о-хиноновая **10**. Вклады хинонметидных структур несколько меньше, причем среди них преобладает структура 3-хинонметид кверцетина **11**, энергия которой всего на $\sim 5(\text{АМ-1}) - 10(\text{ММ}^+)$ кДж/моль превышает значение для о-хинона.

Так, образование димера **14** может быть представлено следующей схемой, включающей присоединение 4'-гидроксильной группы кверцетина в положение 2 хинонметидного таутомера его окисленной формы **11** (схема 7):



В разделе 4.6.1 рассмотрена хроматомасс-спектрометрическая идентификация продуктов электрохимического окисления дифеноконазола **15** в растворах.



Дифеноконазол **15** (молекулярная масса 406) - синтетический фунгицид класса производных триазола. В структуре дифеноконазола содержится атом водорода при третичном атоме углерода в 4-м положении 1,3-диоксоланового цикла, что объясняет возможность его окисления кислородом воздуха в водных растворах по свободно-радикальному механизму.

Наборы продуктов свободнорадикального окисления (растворенным в водных средах кислородом воздуха) и электрохимических превращений во многом идентичны, что делает возможным как их сравнение, так и электрохимическое моделирование процессов окисления. По этой причине представляется целесообразным рассмотреть электрохимическое окисление **15** в качестве модели его свободнорадикального окисления кислородом воздуха в водных растворах.

Нами была проведена хроматомасс-спектрометрическая идентификация продуктов электрохимического окисления дифеноконазола в водных растворах.

Основную часть продуктов электролиза **15** составляют продукты его окисления. В реакционной смеси было обнаружено 11 изомеров с молекулярными массами 421, которые в большинстве случаев являются продуктами присоединения кислорода к **15**.

Возможности соотнесения структур этих изомеров с их временами удерживания ограничены из-за невысокой информативности и воспроизводимости масс-спектров при ионизации электрораспылением.

Окисление дифеноконазола с участием 1,3-диоксоланового фрагмента. Окисление алициклических фрагментов, присутствующих в структурах многих органических соединений, - распространенный путь

деградации экотоксикантов в объектах окружающей среды. Такой механизм окисления включает замещение атомов водорода при атомах углерода гидроксильными группами. Наибольшую реакционную способность проявляют атомы водорода, находящиеся при третичных атомах углерода, меньшую - при вторичных и первичных атомах углерода. Окисление дифеноконазола по третичному, вторичному и первичному атомам углерода может приводить к одновременному образованию соединений **16**, **17** и **18**, соответственно. Учитывая упомянутые выше закономерности окисления алициклических фрагментов органических соединений, относительные количества изомеров в реакционной смеси должны убывать в ряду: **16**, **17** и **18** (схема 8).

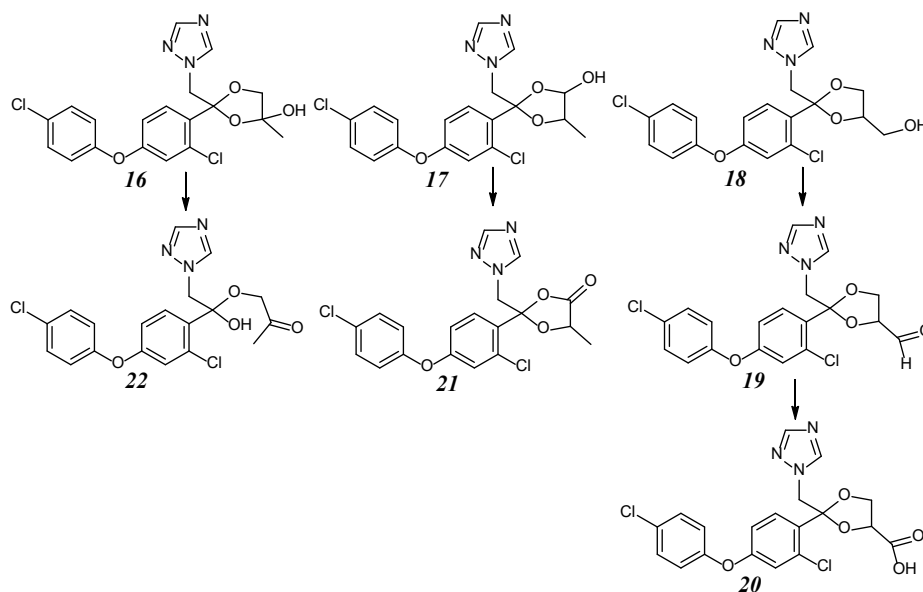
Дальнейшее окисление первичного спирта **18** приводит к образованию соответствующих альдегида **19** и карбоновой кислоты **20**.

Окисление вторичных спиртов происходит легче, чем окисление первичных, а третичных хуже, чем первичных. Продуктам с молекулярными массами 419 и 435 можно приписать структуры **19** и **20**, образующиеся при дальнейшем окислении первичного спирта **18**.

Вещества с массовыми числами ионов $[M+H]^+ = 420$ могут иметь структуру циклического лактона **21**, образование которого может происходить при окислении вторичного спирта **18**.

Соединение **16** относится к классу полукеталей, следовательно, возможна его изомеризация с образованием кетона **22**. Соединение **22** с молекулярной массой 421 и расчетным значением фактора гидрофобности 3.5 на хроматограмме продуктов окисления дифеноконазола соответствует пику с индексом удерживания 943.

Схема 8

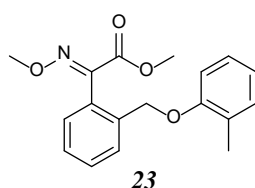


В результате электрохимического окисления дифеноконазола в водном растворе, в нейтральной среде (pH 7.4) в присутствии ацетонитрила (для увеличения растворимости) с последующим хроматомасс-спектрометрическим

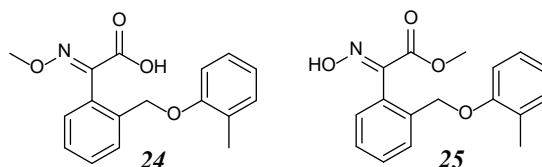
анализом реакционных смесей были установлены основные продукты. В случае дифеноконазола преобладают процессы, связанные с деструкцией 1,3-диоксоланового фрагмента молекулы.

В разделе 4.6.2 рассмотрена хроматомасс-спектрометрическая идентификация продуктов электрохимических превращений крезоксим-метила в растворах.

Крезоксим-метил **23** – синтетический фунгицид, содержащий атом водорода при атоме углерода в α -положении к бензольному кольцу, что объясняет возможность его окисления кислородом воздуха в водных растворах по свободно-радикальному механизму. По этой причине представляется целесообразным рассмотреть электрохимическое окисление крезоксим-метила в качестве модели его свободнорадикального окисления кислородом воздуха в водных растворах и провести ВЭЖХ-МС анализ продуктов электролиза.

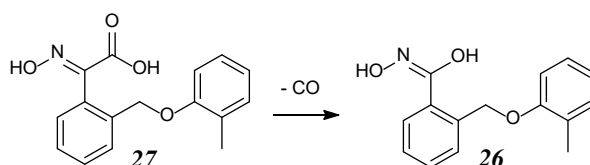


Гидролиз. В смеси продуктов электрохимического окисления крезоксим-метила ($M = 313$) в водно-органической среде нами был обнаружен продукт его деметилирования ($RI = 763$, $[M+H]^+ = 300$). Это соединение можно идентифицировать как карбоновую кислоту **24**, либо как оксим **25**.

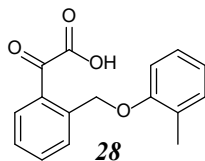


Окисление. Компоненту с индексом удерживания 781 может быть приписана структура гидроксамовой кислоты **26**. Такое соединение может получаться в результате декарбонилирования продукта *бис*-деметилирования **27**, образующегося в результате гидролиза крезоксим-метила **23**. Следы продукта **27** обнаруживаются на хроматограмме в виде малоинтенсивного пика с индексом удерживания 1131. Формально гидроксамовая кислота **26** является единственным зарегистрированным продуктом электрохимического окисления крезоксим-метила (схема 9).

Схема 9

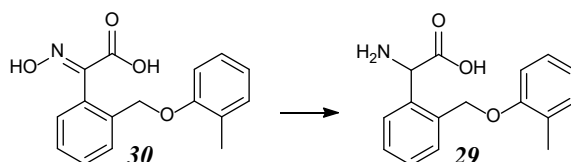


Кетокислота **28** с индексом удерживания 923 и молекулярной массой 270 образуется, скорее всего, в результате еще более глубокого гидролиза соединения **27**.



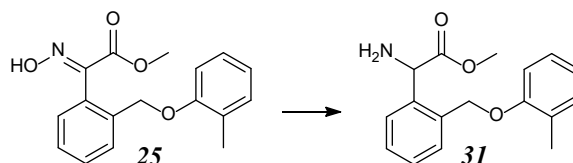
Восстановление. В смеси продуктов окисления был обнаружен пик соединения с $RI = 768$ и молекулярной массой 271. Наиболее вероятной структурой этого компонента представляется структура амина **29**. Такой амин мог образоваться в результате восстановления соответствующего оксима **30** – продукта гидролиза крезоксим-метила (схема 10).

Схема 10



В реакционной смеси обнаружен еще один возможный продукт восстановления оксима **25** с $RI = 800$ и молекулярной массой 285, наиболее вероятная структура которого отвечает формуле **31** (схема 11).

Схема 11



При проведении электрохимического восстановления раствора крезоксим-метила при потенциале -2.8 В, были также получены соединения **29** и **31**, что является подтверждением того, что это продукты восстановления, а не окисления.

Таким образом, среди продуктов электрохимических превращений крезоксим-метила преобладают продукты его гидролиза и восстановления. Продукты окисления присутствуют лишь в незначительных количествах. На основании этого можно полагать, что электрохимическое моделирование окисления экотоксикантов, относительно устойчивых к окислению, но легко подвергающихся гидролизу может сопровождаться неопределенностями, обусловленными, в том числе, восстановлением продуктов гидролиза.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность руководству ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России за возможность использования оборудования для выполнения данной работы, химику-аналитику ФГНУ «Всероссийский научно-

исследовательский институт защиты растений» к.х.н. О.К. Остроуховой за предоставление образцов крезоксим-метила и дифенокназола, заведующему кафедрой аналитической химии СПбГУ д.х.н. профессору С.С. Ермакову за полезные консультации по планированию электрохимических экспериментов и интерпретации результатов, руководству и сотрудникам РОЦ «Химия» Института химии СПбГУ за предоставление оборудования для проведения некоторых электрохимических экспериментов.

ВЫВОДЫ

1. На примерах нескольких органических соединений различной химической природы (алкилфенолы, пестициды, природный флавоноид, алкилфосфиты, алкилфосфонаты и алкилфосфаты) подтверждено, что одним из общих процессов их трансформации в водных объектах окружающей среды является окисление растворенным в воде кислородом атмосферного воздуха. Такие процессы подчиняются закономерностям свободнорадикальных реакций. Установлено сходство наборов продуктов и, как следствие, механизмов свободнорадикального и электрохимического окисления таких аналитов.
2. Установлено, что как свободнорадикальное, так и электрохимическое окисление алкилзамещенных фенолов при $\text{pH} \approx \text{p}K_{\text{a}}$ сопровождается образованием димерных и, в общем случае, олигомерных продуктов. Механизм их образования соответствует генерированию реакционноспособных хинонметидных интермедиатов, основным свойством которых является взаимодействие с присутствующими нуклеофильными реагентами, прежде всего водой и исходными фенолами. Последний процесс и приводит к образованию димеров, а повторение циклов «окисление – присоединение» – олигомерных продуктов.
3. Установление механизма окисления алкилфенолов в водных растворах позволило переосмыслить особенности протекания известной в аналитической химии цветной реакции фенолов с хлоридом железа (III). Входящие в состав первоначально образующихся окрашенных комплексов молекулы фенолов через некоторое время окисляются с образованием хинонметидных интермедиатов и, далее, плохо растворимых в воде олигомерных продуктов.
4. Показано, что для идентификации сложного набора продуктов окисления природного флавоноида кверцетина кислородом воздуха в водных растворах с использованием недостаточно структурно специфичного метода ВЭЖХ-МС наиболее информативен подход, предполагающий систематизацию ранее известных продуктов окисления. Таким способом удалось выявить присутствие ряда нестабильных соединений (гидропероксиды, пероксиды, полуацетали, ацетали, соответствующие кетали, и др.), препаративное выделение которых из водных растворов невозможно.
5. Аналогия процессов окисления природных флавоноидов (на примере кверцетина) и окислительной димеризации алкилфенолов позволило впервые

предложить механизм образования их димеров и олигомеров, часто обнаруживаемых во многих природных объектах.

6. На примере двух пестицидов [дифеноконазол и крезоксим-метил] охарактеризованы продукты их электрохимических превращений в водных растворах. Показано, что в случае дифеноконазола преобладают процессы окисления, затрагивающие преимущественно 1,3-диоксолановый фрагмент молекулы, а в случае крезоксим-метила – процессы гидратации и восстановления, что затрудняет прямое сопоставление электрохимических процессов и свободнорадикального окисления кислородом воздуха.

7. Показано, что хранение при доступе воздуха реакционных смесей, содержащих диалкилфосфонаты и триалкилфосфиты приводит к почти полному окислению этих производных фосфора (III) с образованием соответствующих производных фосфора (V) – ди- и триалкилфосфатов. Для определения таких соединений, особенно нелетучих диалкилфосфатов, рекомендован метод ВЭЖХ-МС с регистрацией положительно заряженных ионов.

Основные материалы диссертации опубликованы в следующих работах:

Статьи:

1. Зенкевич И.Г., Пушкарева Т.И. Систематизация результатов хромато-масс-спектрометрической идентификации продуктов окисления кверцетина кислородом воздуха в водных растворах // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72. № 10. С. 890-903.
2. Пушкарева Т.И., Зенкевич И.Г. Хромато-масс-спектрометрическая идентификация продуктов окисления кверцетина кислородом воздуха в водных растворах // Вестник СПбГУ. 2017. Сер. 4. № 1. С. 55-73.
3. Zenkevich I.G., Pushkareva T.I. Oxidation of 4-isopropylphenol in aqueous solutions as a model for oxidation of flavonoids to form dimers // Chem. Nat. Compd. 2018. V. 54. № 2. С. 312-314.
4. Зенкевич И.Г., Пушкарева Т.И. Хромато-масс-спектрометрическая идентификация необычных продуктов окисления 4-изопропилфенола в водных растворах // Журн. общей химии. 2018. Т. 88. № 1. С. 9-17.
5. Зенкевич И.Г., Пушкарева Т.И. О моделировании механизма образования димерных продуктов окисления флавоноидов // Химия растительного сырья. 2018. № 3. С. 185-197.
6. Зенкевич И.Г., Пушкарева Т.И. Хромато-масс-спектрометрическое определение продуктов окисления алкилфенолов хлоридом железа (III) // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 9. С. 691-702.
7. Зенкевич И.Г., Пушкарева Т.И., Носова В.Е. ВЭЖХ-МС разделение и детектирование диалкилфосфонатов и триалкилфосфитов в

реакционных смесях 1-алканолов с трихлоридом фосфора // Аналитика и контроль. 2018. Т. 22. № 3. С. 259-266.

8. Пушкарева Т.И., Ермаков С.С., Зенкевич И.Г. Хроматомасс-спектрометрическая идентификация продуктов электрохимических превращений крезоксим-метила в растворах // Аналитика и контроль. 2018. Т. 22. № 3. С. 245-252.
9. Пушкарева Т.И., Зенкевич И.Г. Хроматомасс-спектрометрическая идентификация продуктов электрохимического окисления дифеноконазола в растворах // Вестн. моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2019. Т. 60. № 3. С. 34-43.

Тезисы:

1. Pushkareva T.I., Zenkevich I.G. Chromato-mass spectrometric identification of products of quercetin oxidation by atmospheric oxygen in aqueous solutions // Abstr. X Internat. Conf. "Mendeleev – 2017". St. Petersburg, April 4-7, 2017. P. 449.
2. Пушкарева Т.И., Зенкевич И. Г. Хромато-масс-спектрометрическая идентификация продуктов окисления кверцетина кислородом воздуха // Тез. докл. конференции «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы». Москва, 9-13 октября 2017 г. С. 50.
3. Пушкарева Т.И., Зенкевич И. Г. Хроматомасс-спектрометрическая идентификация продуктов окисления 4-изопропилфенола кислородом воздуха в водных растворах // Тез. докл. IV Всерос. симп. «Кинетика и динамика обменных процессов». Сочи, 28 октября-05 ноября 2018 г.

Фрагмент работы, посвященный анализу продуктов взаимодействия спиртов с фосфорилхлоридом, выполнен в соответствии с темой гранта РФФИ № 18-03-00151/а.