

УДК 543.544.51+343.977

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕНАТУРИРУЮЩЕЙ ДОБАВКИ ДЕНАТОНИЙ БЕНЗОАТА В ЭТИЛОВОМ СПИРТЕ И СПИРТСОДЕРЖАЩИХ ЖИДКОСТЯХ

И.М. Фицев, М.В. Чибисова

Аннотация

Рассмотрены различные инструментальные способы (ГХ, ХМС, ИК) определения денатурирующей добавки денатоний бензоата в этиловом спирте и спиртосодержащих жидкостях, являющихся объектами судебной криминалистической экспертизы. Показано, что обнаружение денатоний бензоата на уровне концентраций $1 \cdot 10^{-4}$ – $8 \cdot 10^{-3}$ мг/мл, позволяет относить этиловый спирт к непригодному для производства алкогольной продукции.

Ключевые слова: денатурирующие добавки, газовая хроматография, ИК-спектроскопия, анализ алкогольной продукции.

Введение

В последнее время отмечается значительное увеличение поступления на рынок незаконного оборота алкоголя его суррогатов. Среди них устойчивую позицию занимают спиртосодержащие жидкости (ССЖ), приготовленные на основе денатурированного этилового спирта, содержащего в том числе вредные химические вещества, представляющие реальную опасность для жизни и здоровья вероятных потребителей. Постановлением Правительства Российской Федерации от 3 июня 2004 г. № 349 определен Перечень денатурирующих добавок [1] для этилового спирта и спиртосодержащей продукции из всех видов сырья, среди которых четыре денатурирующие добавки: кротоновый альдегид, бензин, керосин и производное лидокаина – N-[2-[(2,6-диметилфенил)амино]-2-окоэтил]N,N-диэтилбензолметанаммоний бензоат (синонимы: бензоат, битрекс) – репеллент для птиц [2, 3] – вещество 3-го класса опасности [4]. Содержание битрекса в денатурированном алкоголе, согласно Перечню [1], должно составлять не менее 0.001 мас. %. Информация о кожно-резорбтивном, эмбриотропном, гонадотропном, мутагенном и канцерогенном воздействиях битрекса на человеческий организм в доступной отечественной и зарубежной литературе отсутствует. Какие-либо государственные гигиенические нормативы по применению битрекса в качестве денатурирующей добавки для этилового спирта и спиртосодержащей продукции из всех видов сырья до настоящего времени Роспотребнадзором не разработаны. В то же время на потребительском рынке присутствуют товары, в частности фломастеры и краски для детей, содержащие в своем составе денатурированный битрексом этанол.

Из предложенных методов определения битрекса известны методические указания [5] по его определению методами спектрофотометрии (СФ) и тонкослойной хроматографии (ТСХ) в диапазонах 0.00025–0.0025 мас. %. Недостаток СФ-определения (λ_{\max} 410 нм), основанного на образовании продуктов реакции битрекса с бромфеноловым синим и их последующем извлечении бензолом из кислой среды, состоит в мешающем действии четвертичных солей аммония, различных алкалоидов и окрашенных веществ. В связи с этим одним из доступных и относительно недорогих методов определения битрекса, предложенных для лабораторий контролирующих органов, в том числе и для экспертно-криминалистических подразделений органов внутренних дел (ЭКП ОВД), выполняющих исследования ССЖ, остается метод ТСХ. Таким образом, в распоряжении лабораторий, осуществляющих контроль качества, оборота этилового спирта и алкогольной продукции, отсутствуют надежные и высокочувствительные арбитражные способы определения денатоний бензоата. Вместе с тем в настоящее время в литературе отсутствуют сведения об использовании методов газовой хроматографии (ГХ), в том числе и с масс-селективным детектором (ГХ-МС), для обнаружения в денатурированном алкоголе денатоний бензоата. ГХ и ГХ-МС по сравнению с ТСХ обладают большей чувствительностью и позволяют надежно выявлять микроколичества анализируемого вещества в диапазоне 10^{-6} – 10^{-9} г. Следовательно, задача качественного и количественного определения денатурирующей добавки битрекс в этиловом спирте, спиртосодержащей продукции из всех видов сырья, ССЖ, а также суррогатах алкоголя представляется актуальной.

Цель настоящей работы состоит в установлении условий детектирования битрекса методами ГХ, ГХ-МС и ИК-спектроскопии, а также разработке методики его качественного и количественного определения в этиловом спирте, спиртосодержащей продукции и суррогатах алкоголя.

1. Экспериментальная часть

Аппаратура. Использовали хроматограф «Кристалл 2000М» (ЗАО СКБ «Хроматэк», г. Йошкар-Ола, Россия) с пламенно-ионизационным детектором (ПИД) применяя для расчета индекса удерживания стандартную капиллярную кварцевую колонку «DB-1» (100%-ный диметилполисилоксан, $l = 50$ м, $d = 0.20$ мм, толщина пленки фазы 0.33 мкм, фирма «Agilent Technologies», США), газ-носитель – азот (ос. ч). Для ГХ-МС использовали хроматомасс-спектрометры «TurboMass Mass Spectrometer» («Perkin-Elmer», США) и «6890 Network GS System» – «5973N Network Mass Selective Detector» («Agilent Technologies», США). Применяли однотипные кварцевые капиллярные колонки типа «Elite Series PE-5» (5%-ный дифенил-, 95%-ный диметилполисилоксан, $l = 30$ м, $d = 0.25$ мм, толщина пленки фазы 0.25 мкм) или «HP-5 MS», газ-носитель гелий (99.995%). Применяли метод десорбции электронов под действием лазера с поверхности матрицы (MALDI) на времяпролетном масс-анализаторе «MALDI-TOF Dунато» («Thermo Finnigan», США). В качестве матрицы использовали 1,8,9-тригидроксиантрацен. Мощность лазера составляла 48.75 мВт, количество импульсов – 12–18 при скорости сканирования 0.12 с и калибровочных коэффициентах $a = 0.2450$, $b = 0.1783$.

Выявление денатоний бензоата в исследуемых объектах осуществляли путем сравнения времени удерживания со временем удерживания денатоний бензоата на хроматограмме его свободного образца по индексу удерживания, для определения которого использовали стандартную смесь *n*-алканов, по масс-спектрам электронного удара (ЭУ), сравнивая масс-спектр с библиотечным (библиотеки масс-спектров «NIST», «WILEY», «NBS», «Pfleger» США), и по пику молекулярного иона, полученного в условиях MALDI.

Регистрацию ИК-спектров осуществляли в KBr с использованием приставки диффузного отражения на ИК-Фурье спектрометре типа «Spectrum BX FT-IR» («Perkin-Elmer», США) при следующих условиях: разрешение 4, усиление 1, число сканирований 32, интервал записи 4000–400 см⁻¹.

Реагенты. Применяли битрекс (ЗАО НПО «Химсинтез» г. Красноармейск, Россия) с содержанием действующего начала не менее 97.9%. Использовали спирт этиловый ректификованный пищевой «Альфа» и «Высшей очистки», *n*-пропиловый спирт и хлороформ (х. ч.), 25%-ный водный аммиак (ч. д. а), 80%-ную H₃PO₄ (ч.), BaCl₂ (ч.д.а), стандартную смесь *n*-алканов по ASTM D2887 («Sigma-Aldrich Inc.», США), бидистиллированную воду. Раствор битрекса (C = 5–10 мг/мл) готовили растворением точной навески препарата в водно-этанольных растворах крепостью не ниже 40 об. %, приготовленных на этиловом спирте «Альфа» и «Высшей очистки».

2. Результаты и обсуждение

Исследование методами газовой хроматографии, хроматомасс-спектрометрии и инфракрасной спектроскопии. Для газохроматографического определения битрекса с ПИД осуществляли подбор оптимальных условий определения. При этом было установлено, что наилучшие результаты в ГХ достигаются при следующих условиях: температура инжектора – 250 °С, температура ПИД – 280 °С, температура колонки изменялась от 200 °С до 280 °С, со скоростью 10 °С/мин. Пробу вводили в хроматограф в режиме с делением потока 1 : 50. В приведенных выше условиях хроматографического разделения установлено, что битрекс детектируется в виде индивидуального симметричного пика. С использованием колонки, параметры которой указаны выше, были проведены эксперименты по установлению индекса удерживания битрекса. Оказалось, что битрекс элюируется между *n*-алканами с числом углеродных атомов C₂₅ и C₂₆, а его индекс удерживания, рассчитанный по известному алгоритму с использованием неисправленного времени удерживания при указанных выше условиях линейного программирования температуры [6], равен 2557.

Полученные результаты использовали в ГХ-МС с ЭУ. Наиболее оптимальными оказались следующие условия проведения ГХ-МС-определения битрекса: температура программируемого «split/splitless» инжектора – 250 °С, скорость изменения температуры колонки в интервале от 200 °С до 270 °С равнялась 10 °С/мин, скорость потока газа носителя – 1 мл/мин, деление потока 1 : 50. Температура ионного источника составляла 200 °С, а температура интерфейса ГХ-МС равнялась 250 °С. Регистрацию хроматограмм проводили по полному ионному току и энергии ионизации 70 эВ (ЭУ) в области значений *m/z* 25–450 а. е. м и скорости сканирования 0.25 с. Все определения, так же как в и случае ГХ,

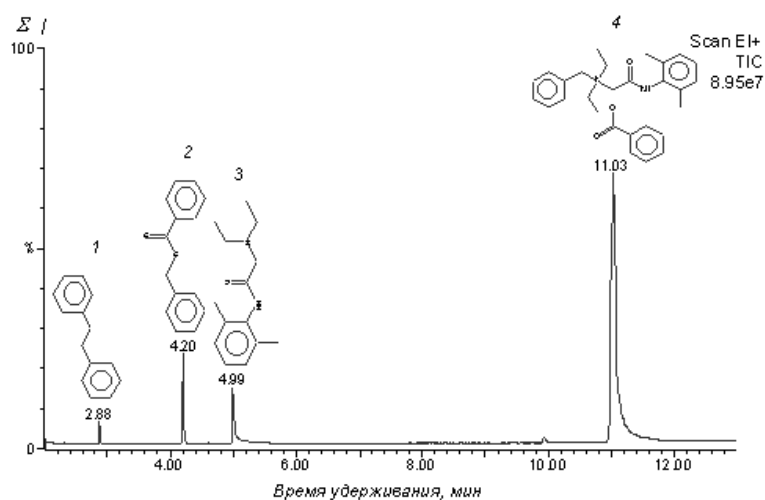


Рис. 1. Ионная хроматограмма свободного образца денатоний бензоата ($C = 0.5$ мг/мл): 1 — дигидростильбен; 2 — бензилбензоат; 3 — лидокаин; 4 — денатоний бензоат

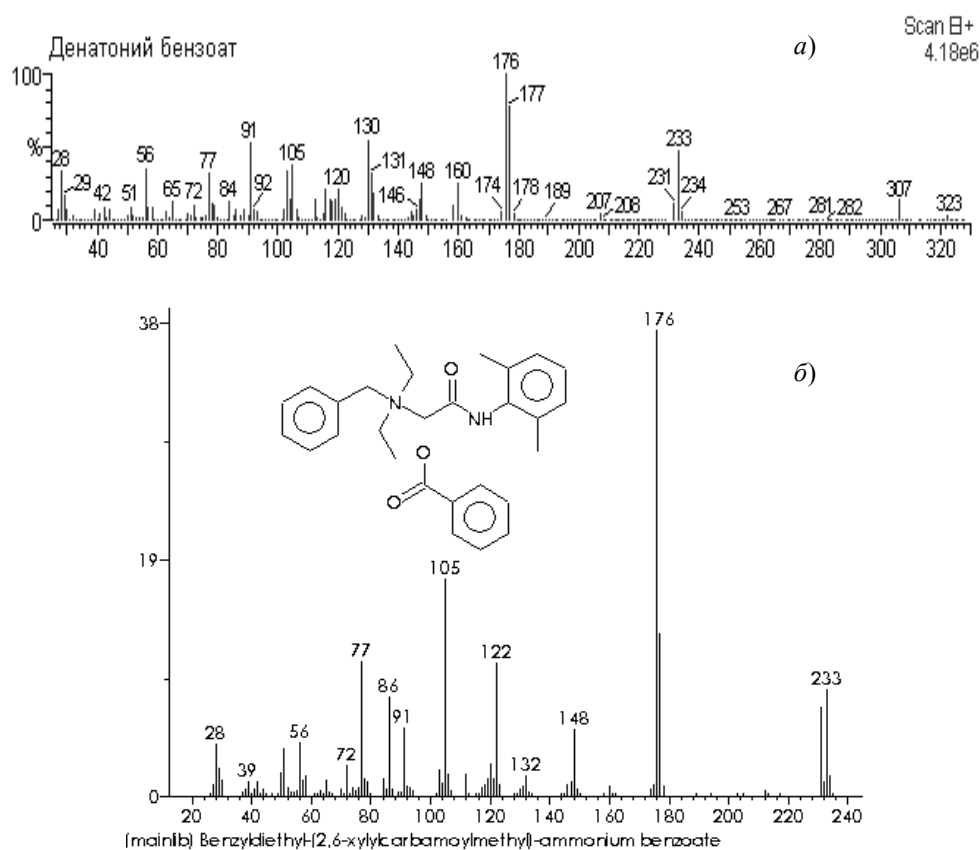


Рис. 2. а) экспериментальный масс-спектр электронного удара денатоний бензоата; б) библиотечный масс-спектр денатоний бензоата (CAS № 3734-33-6), библиотека масс-спектров «NIST»

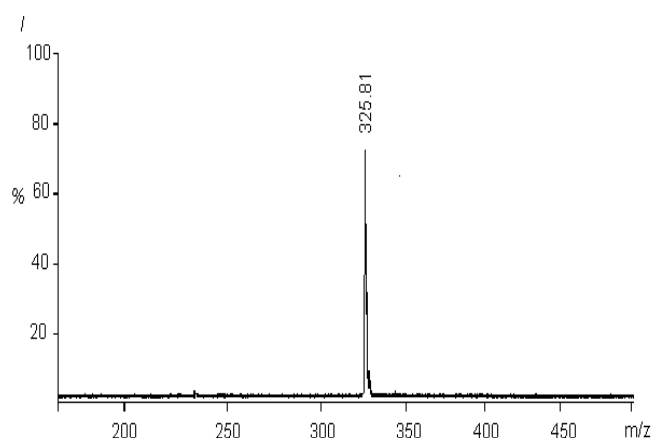


Рис. 3. Молекулярный ион денатоний бензоата, зарегистрированный в условиях MALDI-TOF масс-спектрометрии

выполняли в трёх повторностях. При этом на ионной хроматограмме детектировали основной пик ($t_r = 11.03$ мин, рис. 1), в масс-спектре которого отчетливо проявляются фрагменты, подтверждающие сложную структуру молекулы битрекса (рис. 2 а, б). Кроме битрекса, в условиях ГХ-МС при исследовании содержащих его растворов были обнаружены следы исходных компонентов для синтеза битрекса: дигидростильбена, бензилбензоата и лидокаина.

Для получения пика молекулярного иона, нестабильного в условиях метода ЭУ, в условиях для MALDI-TOF масс-спектрометрии был зарегистрирован отчетливый молекулярный ион битрекса M^+ 325 (рис. 3), подтверждающий результаты, полученные ранее методами ГХ и ГХ-МС.

Для количественного ГХ-ПИД- или ГХ-МС-определения детекторы хроматографов калибровали по модельным смесям, представляющим собой этанольные растворы свободного образца денатоний бензоата в динамическом диапазоне концентраций 0.02–5.00 мг/мл. Непосредственное детектирование битрекса с концентрацией 0.02 мг/мл (раствора, наиболее близкого к пределу обнаружения) проводили не менее 10 раз, так как стандартное отклонение (0.33) этой величины можно рассматривать как характеристику точности методики определения [7]. Установлено, что площадь ГХ-пика линейно зависит от концентрации битрекса, а уравнение градуировочного графика, например, в условиях ГХ-МС имеет вид: $S_{\text{пика}}(\text{y.e.}) = a + bC$, где $a = (5.10 \cdot 10^4 \pm 0.35 \cdot 10^4)$; $b = (1.39 \cdot 10^6 \pm 0.02 \cdot 10^6)$; C – содержание битрекса, мг/мл; $n = 10$, $r = 0.998$. Предел обнаружения битрекса, вычисленный по $3S$ -критерию, составляет $8 \cdot 10^{-3}$ мг/мл (без предварительного концентрирования). С целью повышения чувствительности определения битрекса исследовали возможность ввода пробы без деления потока и концентрирования проб спиртосодержащих жидкостей (коэффициент концентрирования 200) с последующей экстракцией в хлороформ. Последнее повышает чувствительность ГХ-определения битрекса до $1 \cdot 10^{-4}$ мг/мл и позволяет дополнительно использовать метод ИК-спектроскопии для качественного определения битрекса. В последнем случае в качестве сравнения можно использовать ИК-спектр нативного образца битрекса (рис. 4). В инфракрасном спектре денатоний бензоата имеются полосы поглощения, характерные для

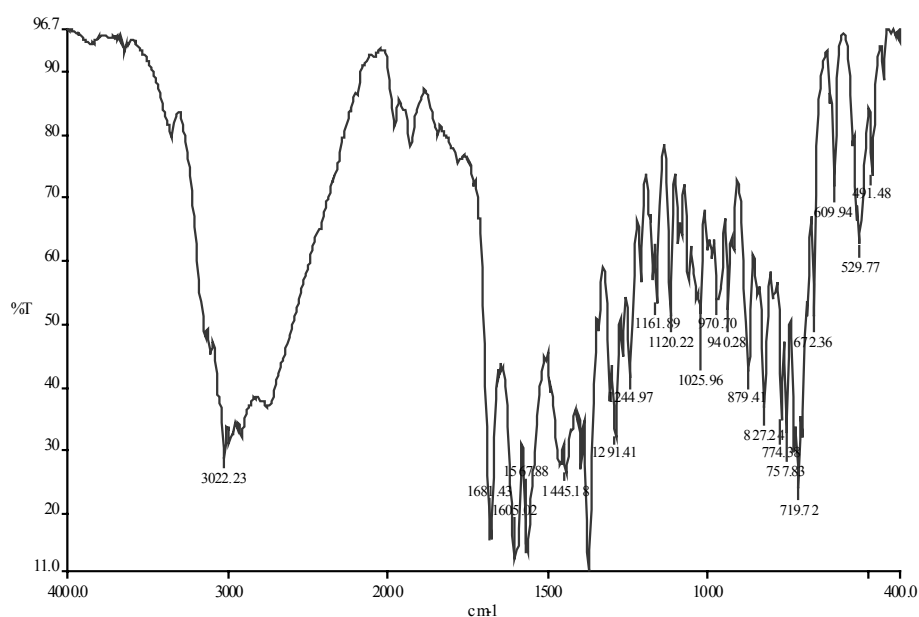


Рис. 4. ИК-спектр денатоний бензоата, элюированного из слоя сорбента пластины «Sorbfil ПТСХ-АФ-В-УФ»

четвертичных аммониевых солей (3022 cm^{-1}), ароматических вторичных амидов (1681 , 1605 , 1374 , 1291 cm^{-1}) и их 1,3-замещенных (1605 , 879 cm^{-1}). Следовательно, при отсутствии возможности проведения испытаний методами ГХ или ГХ-МС возможно, использование ИК-спектроскопии в сочетании с приемами и способами препаративной ТСХ, основанной на элюировании разделенных компонентов пробы ССЖ из слоя сорбента и их последующую идентификацию методом ИК-спектроскопии.

Таким образом, результаты, полученные в ходе проведенных исследований, позволяют рекомендовать предложенные способы для определения битрекса в этиловом спирте, спиртосодержащей продукции, ССЖ, суррогатах алкоголя, в том числе и в экспертно-криминалистической практике при производстве судебных экспертиз. При выявлении в объекте исследований денатоний бензоата делается вывод о наличии денатурирующей добавки с указанием его массовой доли. Присутствие денатоний бензоата в этиловом спирте и ССЖ, изготовленных из такого спирта, на основании ГОСТ Р 51786-2001 [8] позволяет отнести этиловый спирт к непригодному для производства алкогольной продукции, а спиртосодержащую продукцию на его основе – к ССЖ, изготовленным из спирта этилового, непригодного для производства алкогольной продукции. Спирт этиловый синтетический, технический и пищевой, непригодный для производства алкогольной продукции включен в «Список ядовитых веществ», утвержденный постановлением Правительства Российской Федерации от 29 декабря 2007 г. № 964 [9].

Авторы выражают свою глубокую признательность за помощь, оказанную при проведении экспериментов по MALDI-TOF ведущему научному сотруднику Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра РАН кандидату химических наук С.Е. Соловьевой.

Summary

I.M. Fitsev, M.V. Tchibisova. Determining the Denaturic Additive of Denatonium Benzoate in Ethyl Alcohol and Alcohol Solutions.

The article considers different instrumental ways (GC, GC-MS, IR-spectroscopy) of the determination denaturic additives of denatonium benzoate in ethyl alcohol and alcohol solutions being the objects of criminalistic expertise. It is shown that finding denatonium benzoate at a rate of concentrations $1 \cdot 10^{-4} - 8 \cdot 10^{-3}$ mg/mL allows regarding ethyl alcohol as unfit for alcohol production.

Key words: denaturants, gas chromatography, IR-spectroscopy, alcohol-containing products analysis.

Литература

1. Приложение к постановлению Правительства Российской Федерации от 3 июня 2004 г. № 349. Перечень денатурирующих добавок (ингредиентов) для этилового спирта и спиртосодержащей продукции из всех видов сырья // Рос. газ. – 2006. – 8 июня. – № 4087.
2. Методические указания по установлению ОБУВ вредных веществ в воздухе рабочей зоны. – М.: МЗ СССР, 1985. – 265 с.
3. Методические указания по применению расчетных и экспресс-экспериментальных методов при гигиеническом нормировании химических соединений в воде водных объектов. – М.: МЗ СССР, 1979. – 138 с.
4. ГОСТ 12.1.007-76. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. – М.: Госстандарт СССР, 1976. – 6 с.
5. Определение массовой концентрации битрекса (денатоний бензоата) в этиловом спирте и спиртосодержащей продукции из всех видов сырья методами спектрофотометрии и тонкослойной хроматографии // Методические указания МУК 4.1.1489-03. – М.: МЗ РФ, 2003. – С. 23.
6. Высокоэффективная газовая хроматография / Под ред. К. Хайвера. – М.: Мир, 1993. – 228 с.
7. *Доерфель К.* Статистика в аналитической химии. – М.: Мир, 1969. – 240 с.
8. ГОСТ Р 51786-2001 «Водка и спирт этиловый из пищевого сырья. Газохроматографический метод определения подлинности». – М.: ИПК Изд-во стандартов, 2002. – 10 с.
9. «Список ядовитых веществ», утвержденный постановлением Правительства Российской Федерации от 29 декабря 2007 г. № 964 «Об утверждении списков сильнодействующих и ядовитых веществ для целей статьи 234 и других статей Уголовного кодекса Российской Федерации, а также крупного размера сильнодействующих веществ для целей статьи 234 Уголовного кодекса Российской Федерации» // Рос. газ. – 2008. – 16 янв. – № 4563.

Поступила в редакцию
13.11.08

Фицев Игорь Михайлович – кандидат химических наук, заместитель начальника отдела специальных экспертиз Экспертно-криминалистического центра МВД по Республике Татарстан, г. Казань.

E-mail: fitzev@mail.ru

Чибисова Маргарита Вячеславовна – главный эксперт 12-го отдела Экспертно-криминалистического центра МВД России, г. Москва.

E-mail: mvchibisova@mail.ru