# Определение молекулярной серы в минеральных водах «Мацеста» и ее аналога «Новонукутская»

В.А. ХУТОРЯНСКИЙ, А.И. СМИРНОВ, Д.А. МАТВЕЕВ

Иркутский государственный университет, ул. К. Маркса, 1, Иркутск, Российская Федерация, 664003

## The determination of molecular sulphur in Matsesta mineral water and its analog Novonukutskaya mineral water

V.A. KHUTORYANSKY, A.I. SMIRNOV, D.A. MATVEEV

Irkutsk State University, ul. Karla Marksa, 1, Irkutsk, Russian Federation, 664003

Методом микроколоночной обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии определено содержание элементарной серы в минеральных водах. Методика основана на анализе проб сероводородных минеральных вод «Новонукутская» и «Мацеста», полученных методом твердофазной экстракции. На основании полученных данных обсуждается происхождение и роль серы в сероводородных источниках. Условия выбранного элюирования позволяют с высоким разрешением отделить пик октасеры от пиков аллотропных компонентов экстракта, а двухволновое детектирование — идентифицировать пики молекулярной серы.

*Ключевые слова: жидкостная хроматография, твердофазная экстракция, сера, полисульфиды, сульфаны, «Мацеста».*

The method of microcolumn reversed phase high performance liquid chromatography (rp-HPLC) was employed to determine the content of elemental sulphur in mineral waters. The study envisaged the analysis of the samples of sulphide-containing mineral waters Novonukutskaya and Matsesta obtained by the solid phase extraction technique. Based on these data, the authors discuss the origin and the circulation of sulphur in the hydrogen sulphide sources. The elution conditions selected in this study ensured the high-resolution separation of the octasulphur peak from the peaks of allotropic components of the extract whereas the two-wave detection technique allowed to identify the peaks of molecular sulphur.

*Key words: liquid chromatography, solid-phase extraction, sulphur, polysulphides, sulphans, «Matsesta».*

Ранее при изучении методом хромато-масс-спектрометрии твердофазных экстрактов (ТФЭ) бальнеологически активных веществ рассола из Новонукутского источника и препарата, выделенного из него, было показано, что основными продуктами являются сера $S_8$, циклические полиядерные сера-органические соединения, а также диалкилполисульфиды [1].

Изучение состава биологически активных веществ в минеральных водах (МВ) и препаратах из них служит источником информации для выбора методов получения и стабилизации лечебных свойств таких препаратов. По общепринятой точке зрения, главным лечебным компонентом сульфидных МВ является сероводород, а образование молекулярной серы в МВ возможно при окислении сероводорода кислородом воздуха или, например, по схеме, предложенной Хальбергом, микроорганизмами, окисляющими далее серу в сульфат [2]. Однако скорость таких процессов незначительна при комнатной температуре и, особенно, в присутствии фиксирующих добавок.

Цель работы — анализ содержания молекулярной серы в водных растворах МВ методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в условиях устойчивой сорбции и десорбции молекулярной серы методом ТФЭ.

*Методика эксперимента.* Пробы фиксировались после отбора из источника, отстаивания и декантации добавлением 10 об.% этилового спирта. Препарат из рассола МВ «Новонукутская» получен согласно [3].

Извлечение активных компонентов из исследуемых образцов проводили, прокачивая анализируемый раствор, содержащий 10% ацетонитрила от общего объема пробы, через сорбирующий патрон

© Коллектив авторов, 2014

*Сведения об авторах:*

*Хуторянский Виталий Аркадьевич* — к.х.н., н.с. лаб. гидрохимии ИГУ, e-mail: hutor@chem.isu.ru; *Смирнов Александр Ильич* — д.х.н., проф., зав. каф. органической химии ИГУ; *Матвеев Дмитрий Александрович* — к.х.н., доц. каф. аналитической химии ИГУ.

фирмы «Supelco», $C_{18}$, для лучшего контакта с обращенно-фазным сорбентом. После пропускания пробы патрон для ТФЭ сушили 40 мин в водоструйном вакууме, промывали раствором 1,5 мл ацетонитрила—воды (1:1) для удаления эфиров фталевой кислоты, сушили 40 мин и элюировали 1,5 мл гексана. Пробы №2, 6 через 24 ч экстрагировали гексаном при соотношении МВ—гексан 10:1.

*ВЭЖХ.* Хроматографические эксперименты выполняли на микроколоночном жидкостном хроматографе Милихром А-02 (ЗАО «ЭкоНова», Новосибирск) с колонкой размером 2×75 мм, заполненной сорбентом ProntoSIL-120-5-C18, 5 мкм. Условия хроматографирования: подвижная фаза смесь (85:15) ацетонитрила с водой, градиент 500 мкл до 100% ацетонитрила и 500 мкл 100% ацетонитрила, со скоростью расхода элюента 0,2 мл/мин, температура колонки 45 °С, одновременное фотометрическое детектирование при 200 и 220 нм. Пик серы идентифицировали по двум параметрам: времени удерживания ($T_R$) и спектральному отношению. Значение *R* рассчитывали как отношение площадей пиков серы, зарегистрированных при детектировании при соответствующих длинах волн ($R=A_{220}/A_{200}$). Количественное измерение проводили способом внешнего стандарта. Для приготовления растворов сравнения использовали серу квалификации особо чистая (ос. ч.), гексан и ацетон ос. ч., для хроматографии — ацетонитрил для ВЭЖХ («Криохром», Санкт-Петербург).

МВ «Новонукутская» — рассол хлоридно-натриевого состава с минерализацией до 55 г/дм$^3$ и концентрацией растворенного сероводорода до 450 мг/дм$^3$, применяется при лечении воспалительных заболеваний органов движения и опоры, периферической и центральной нервной системы.

Обнаруженные в пробах исходной МВ и выделенного из нее препарата циклические полисульфиды можно отнести к экзотическим компонентам, так как присутствие циклических полисульфидов в МВ в литературе не встречается. Недавно органические полисульфиды обнаружены в донных отложениях Финского залива [4]. Необходимо отметить, термин «полисульфиды» применим к органическим и неорганическим соединениям со связью сера—сера, однако соединения, содержащие группы ($RS_xR_1$, x>3, где $R_1$=H) называют полисульфанами. Эти соединения растительного происхождения хорошо известны, и особенно аллицин, распад которого приводит к образованию от диаллилдисульфида до диаллилтетрасульфида и даже диаллилгептилсульфида.

В препарате, полученном из МВ «Новонукутская», по данным хромато-масс-спектроскопии, присутствуют те же соединения [5]. В.Н. Бехтерев и соавт. [6] обнаружили в экстрактах Мацестинских МВ, обладающих такими же бальнеологическими свойствами, как МВ «Новонукутская», присутствие тиольных, сульфидных и тионовых фрагментов, что совпадает с нашими данными. Однако из-за уширения пиков, соответствующих сере на хроматограммах, авторы [6] не определили в масс-спектрах элементную серу. Такое уширение пиков, соответствующих молекулярной сере, характерно при образовании аллотропов в испарителе газового хроматографа.

Поэтому было интересно оценить содержание ($S^0$) методом ВЭЖХ в МВ «Новонукутская» и «Мацестинская». Как отмечено ранее, газожидкостная хроматография в сочетании с масс-спектрометрией не является привлекательным методом для количественного определения следов серы из-за возможности образовании аллотропов в испарителе хроматографа.

Метод жидкостной хроматографии позволяет регистрировать циклы серы с различным числом атомов, находящихся в «нативном» виде. Предел обнаружения с помощью обращенно-фазовой жидкостной хроматографии для серы составляет 10 мг/г [7]. Нами использовалась методика микроколоночной обращенно-фазовой ВЭЖХ, разработанная для определения элементарной серы в донных осадках озера Байкал [8].

Хроматограмма стандартного раствора молекулярной $S_8$ приведена на **рис. 1**.

Как видно из приведенных хроматограмм **(рис. 2—4)**, условия выбранного элюирования позволяют с высоким разрешением отделить пик серы от пиков сопутствующих компонентов экстракта, а двухволновое детектирование — идентифицировать пик серы с высокой степенью достоверности. Уменьшение «химического шума» предварительной промывкой концентрирующего патрона 50% ацетонитрилом способствует снижению «химического шума»

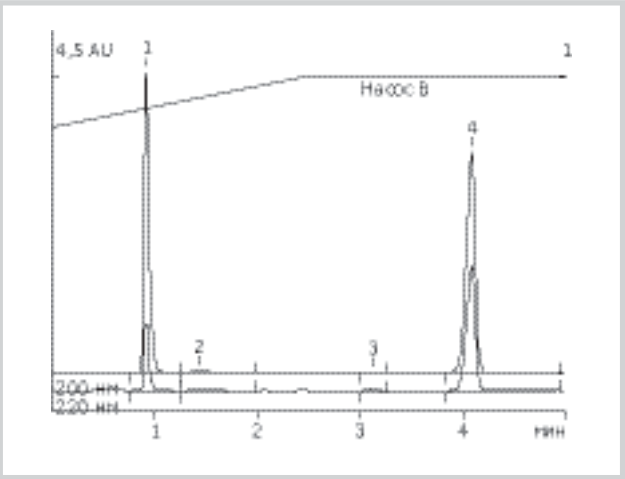



***Рис. 1.*** **Хроматограмма ацетонового раствора $S^0$ ос. ч., концентрация 0,356 мг/мл, проба 2 мкл.**

Объем введенной пробы 2 мкл. 4 — пик элементной серы. $T_R$=4,05±0,2 мин, $S_{220}/S_{200}$=0,556±0,011.

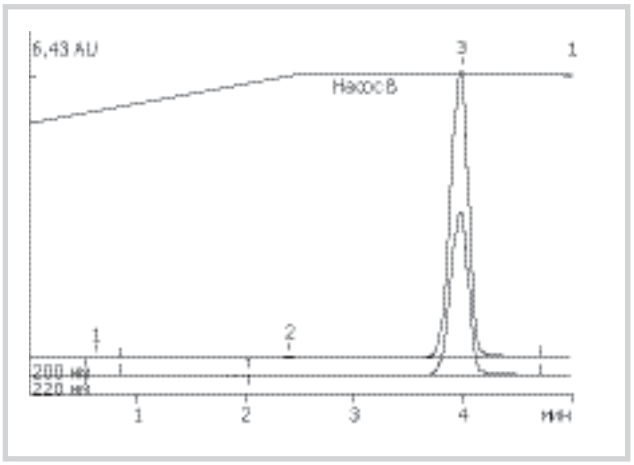



***Рис. 2.*** **Хроматограмма гексанового ТФЭ 100 мл МВ «Мацеста».**

Объем введенного экстракта 2 мкл. 5 — пик элементной серы. $T_R$=4,1±0,2 мин, $S_{220}/S_{200}$=0,543±0,011. Колонка: ProntoSIL-120-5-C18, 2,0×75 мм, 5,0 мкм. Подвижная фаза ацетонитрил—вода (85%), скорость подачи 0,2 мл/мин, температура 45 °С.

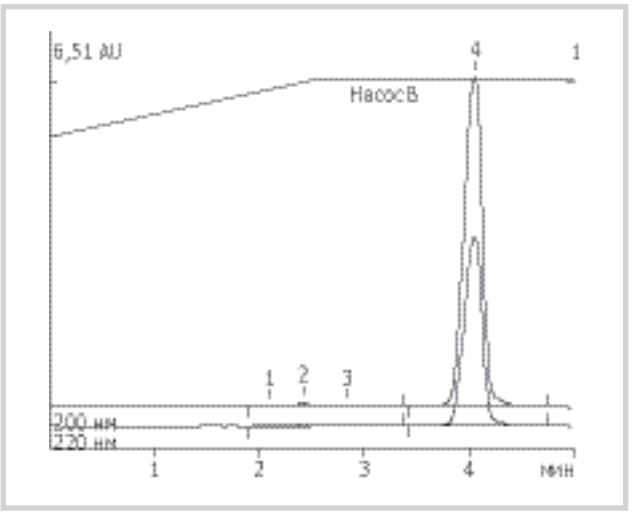



***Рис. 3.*** **Хроматограмма гексанового смыва 100 мл ТФЭ препарата из МВ «Новонукутская».**

Объем введенного экстракта 2 мкл. 4 — пик элементной серы. $T_R$=4,1±0,2 мин, $S_{220}/S_{200}$=0,553±0,011.

фталатов, а использование ацетонитрила в подвижной фазе с целью понижения фона дает возможность детектирования в области 200—220 нм. Как видно из полученных данных, молекулярная сера в исследованных МВ представлена в виде аллотропа октасеры.

Сорбция в ТФЭ пробах МВ «Новонукутская» и «Мацеста» молекулярной серы в таких высоких концентрациях оказалось неожиданной, так как сера практически не растворима в воде [9]. Более того, как оказалось, через сутки при комнатной температуре при стоянии на воздухе МВ и выделения сероводорода молекулярная сера выделяется в виде тонкой пленки на поверхности воды (**см. таблицу**, пробы 2, 6). Это позволяет предположить, что молекулярная сера в основном образуется при разложении полисульфанов $H_2SS_n$ [10], а не в результате биохимического восстановления сульфатов:

$H_2SS_n \rightarrow SH_2 + S_n$.

При потере сероводорода или при переходе сульфанов в полисульфиды pH этих МВ сдвигается в кислую область на две единицы. Такое изменение первоначального значения pH наблюдалось во всех

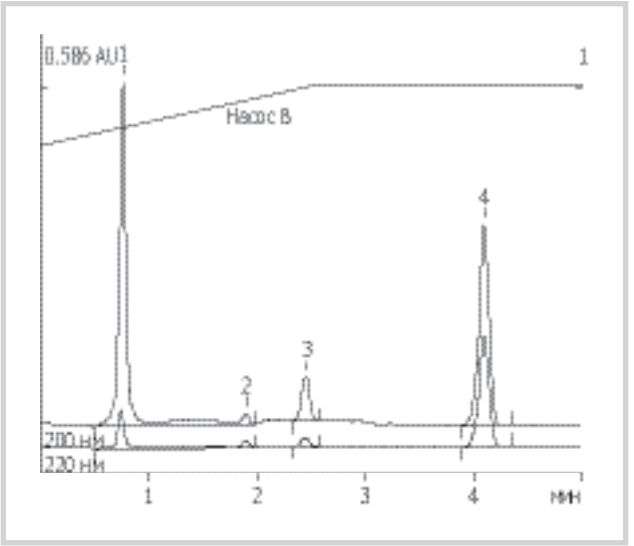



***Рис. 4.*** **Хроматограмма гексанового смыва 100 мл ТФЭ препарата из МВ «Новонукутская».**

Объем введенного экстракта 2 мкл. 4 — пик элементной серы. $T_R$=4,06±0,2 мин, $S_{220}/S_{200}$=0,567±0,011. Колонка ProntoSIL-120-5-C18, 2×75 мм, скорость подачи 0,2 мл/мин, подвижная фаза вода: ацетонитрил — 85% 500 мл + 500 мл ацетонитрила (100%).

**Анализ МВ «Мацеста», «Новонукутская» и выделенного из них препарата**

| № | Проба МВ | Сероводород, г/дм$^3$ | Молекулярная сера, г/дм$^3$ |
|---|---|---|---|
| 1 | «Мацеста», октябрь 2013 г. | 0,15—0,45 | $1{,}272\times10^{-2}$ |
| 2 | «Мацеста», октябрь 2013 г. (через 24 ч) | 0,15—0,45 | $1{,}19\times10^{-2}$ |
| 3 | «Новонукутская», май 2013 г. | 0,28±0,2 | $1{,}32\times10^{-3}$ |
| 4 | «Новонукутская», ноябрь 2013 г. | 0,31±0,2 | $2{,}32\times10^{-3}$ |
| 5 | «Новонукутская», январь 2014 г. | 0,35±0,2 | $7{,}3\times10^{-3}$ |
| 6 | «Новонукутская», январь 2014 г. (через 24 ч) | 0,35±0,2 | $0{,}825\times10^{-2}$ |
| 7 | «Новонукутская», март 2014 г. | 0,36±0,2 | $4{,}50\times10^{-3}$ |
| 8 | Препарат | 0 | $0{,}76\times10^{-3}$ |

пробах, что также подтверждает наличие $H_2S_n$, так как сульфаны обладают более кислыми свойствами, чем сероводород [11].

Константа проницаемости ($P_м$) сероводорода через бислойные липидные мембраны достаточно высока и составляет 0,5±0,4 см/с (для сравнения $P_м$ для кислорода составляет примерно 0,0050±0,0006 см/с) [12]. Полярность сульфанов и сероводорода близка и, следовательно, проницаемость сульфанов через мембраны так же велика, как проницаемость сероводорода. Также можно предположить, что сульфаны являются транспортными молекулами, доставляющими молекулярную серу в организм при лечении сероводородными водами. Тогда возникает вопрос о роли молекулярной серы, образующейся при распаде, в бальнеологических свойствах сероводородных МВ. Как известно, сера оказывает противоаллергическое действие, очищает кровь, стимулирует клеточное дыхание, улучшает работу мозга, поддерживает упругость и здоровый цвет кожи. Она необходима для образования кератина и меланина. Однако роль сульфанов и влияние аллотропии совсем не принималось во внимание, что связано с трудностью определения таких соединений серы и отсутствием методик анализа в водных средах.

**Конфликт интересов отсутствует.**

**Участие авторов:**

Концепция и дизайн исследования, написание текста: В.Х., А.С., Д.М.

Сбор и обработка материала: В.Х., Д.М.

Редактирование: А.С.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Шпейзер Г.М., Хуторянский В.А., Родионова В.А., Минеева Л.А., Смирнов А.И., Глебец В.И., Малышкина Н.А., Юшков Г.Г., Игуменыцева В.В., Щукина О.Г., Бенеманский В.В., Буц М.М.* Современные технологии выделения бальнеологических препаратов из минеральных вод. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2010; 4: 41—2.
2. *Hallberg K.B., Dopson M., Lindstrom E.B.* Reduced sulfur compound oxidation by Thiobacillus caldus. J. Bacteriol. 1996; 178 (1): 6—11.
3. *Шпейзер Г.М., Хуторянский В.А., Родионова В.А., Минеева Л.А., Смирнов А.И., Глебец В.И., Малышкина Н.А., Юшков Г.Г., Игуменыцева В.В., Щукина О.Г., Бенеманский В.В., Буц М.М.* Способ получения средства, обладающего ранозаживляющей активностью. Патент №2357740, Российская Федерация. Опубликовано 10.06.2009.
4. *Хорошко Л.О., Белякова Ю.Г., Викторовский И.В., Паасивирта Я.* Органические полисульфиды в донных отложениях Финского залива. Химия в интересах устойчивого развития. 2007; 15 (1): 109—16.
5. *Шпейзер Г.М., Смирнов А.И., Хуторянский В.А., Минеева Л.А., Родионова В.А.* Новые данные о составе органических веществ в минеральных водах. Современные проблемы науки и образования. 2006; 2: 62—4.
6. *Бехтерев В.Н., Георгиади-Авдиенко К.А., Ходасевич Л.С., Пронина Т.В.* Предварительные исследования биологической активности парофазных экстрактов органических веществ мацестинских минеральных вод. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2008; 1: 32—4.
7. *Dash K., Thangavel S., Krishnamurthy N.V., Rao S.V., Karunasagara D., Arunachalam J.* Ultrasound-assisted analyte extraction for the determination of sulfate and elemental sulfur in zinc sulfide by different liquid chromatography techniques. Analyst. 2005; 130: 498—501.
8. *Азарова И.Н., Горшков А.Г., Грачев М.А., Коржова Е.Н., Смагунова А.Н.* Определение элементарной серы в донных осадках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Журнал аналитической химии. 2001; 56 (10): 1062—6.
9. *Хуторянский В.А., Смирнов А.И., Намсараев Б.Б., Хахинов В.В., Гамбужапова Л.Б.* Анализ молекулярной серы сульфидных минеральных вод. В кн.: «Питьевая вода в XXI веке»: научно-практическая конференция с международным участием. Иркутск, 23—28 сентября 2013 г. Иркутск; 2013: 95.
10. *Steudel R.* The chemistry of organic polysulfanes R-S-(n)-R (n>2). Chem. Rev. 2002; 102 (11): 3905—45.
11. *Ахмедова Ю.И., Шинкарь Е.В., Берберова Н.Т.* Исследование действия окислителей на процесс разложения полисульфанов в газовой сере. Вестник Астраханского государственного технического университета. 2007; 6: 8—13.
12. *Mathai J.C., Missner A., Kügler P., Saparov S.M., Zeidel M.L., Lee J.K., Pohl P.* No facilitator required for membrane transport of hydrogen sulfide. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009; 106 (39): 16633—8.

Поступила 25.06.2014