

Том 79, Номер 2

ISSN 0044-4502
Февраль 2024



ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ



НАУКА

— 1727 —

СОДЕРЖАНИЕ

Том 79, номер 2, 2024

ОБЗОРЫ

- Дисперсионная и магнитная твердофазная экстракция органических соединений.
Обзор обзоров
*С. Г. Дмитриенко, В. В. Апяри, В. В. Толмачева, М. В. Горбунова,
А. А. Фурлетов* 99
- Новое в методологии химической идентификации
Б. Л. Мильман, И. К. Журкович 119
- Развитие способов пробоподготовки и ввода проб в источники возбуждения и ионизации
для комбинированных методик атомно-эмиссионного и масс-спектрального анализа
Н. С. Медведев, А. И. Сапрыкин 138

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Разработка методики поляризационного флуоресцентного иммуноанализа для определения
тилозина в мёде
*С. А. Еремин, Л. И. Мухаметова, Д. А. Арутюнян, А. Г. Терещенков, Н. В. Сумбатьян,
А. Д. Прийма, И. С. Нестеренко, А. Н. Берлина, Д. В. Сотников* 147
- Изучение метаболизма секретораго гормона роста ибутаморена (МК-677) в моче человека
методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии
высокого разрешения
Е. В. Дмитриева, А. З. Темердашев, Э. М. Гашимова, А. А. Азарян 156
- Электрофоретическое определение углеводов в объектах природного
происхождения методом косвенного детектирования
Е. А. Колобова, А. В. Малюшевская, Л. А. Карцова 163
- Автоматизированное микроэкстракционное выделение свинца из растительных
масел для определения методом атомно-абсорбционной спектрометрии
А. Ю. Шишов, А. В. Булатов 173
- Анализ молочной продукции: определение массовой доли молочного жира и выявление
фальсификации смартфоном с приложением PhotoMetrix PRO®
В. Г. Амелин, З. А. Ч. Шаока, А. В. Третьяков 181

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

- Новые книги издательства Elsevier 189

ХРОНИКА

- Научные чтения памяти академика Ю.А. Карпова 191
-

УДК 543.068, 543.05, 543.63

ДИСПЕРСИОННАЯ И МАГНИТНАЯ ТВЕРДОФАЗНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ. ОБЗОР ОБЗОРОВ

© 2024 г. С. Г. Дмитриенко^а, В. В. Апяри^а, В. В. Толмачева^{а,*}, М. В. Горбунова^а, А. А. Фурлетов^а

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
химический факультет

ГСП-1, Ленинские горы, 1, стр., Москва, 119991, Россия

*E-mail: nikatolm@mail.ru

Поступила в редакцию 19.04.2023 г.

После доработки 27.04.2023 г.

Принята к публикации 28.04.2023 г.

Дисперсионная твердофазная экстракция (ДФЭ) и магнитная твердофазная экстракция (МДФЭ) относятся к методам твердофазного сорбционного концентрирования. По сравнению с классической твердофазной экстракцией эти методы имеют ряд преимуществ, таких как снижение расхода сорбентов и растворителей, времени экстракции и стоимости анализа. О популярности метода среди аналитиков свидетельствует большое число обзоров, которые мы обобщили в настоящей публикации. Систематизирована информация о разных вариантах этих методов, различающихся способом осуществления процесса концентрирования, природой используемых сорбентов, сочетанием с методами последующего определения сконцентрированных веществ; приведены примеры использования ДФЭ и МДФЭ для выделения органических соединений при анализе объектов окружающей среды, пищевых продуктов и биологических жидкостей.

Ключевые слова: дисперсионная твердофазная экстракция, магнитная твердофазная экстракция, микроэкстракционное концентрирование, органические соединения, белая аналитическая химия.

DOI: 10.31857/S0044450224020011, **EDN:** vzjfhv

Одной из заметных тенденций современной аналитической химии является миниатюризация химического анализа в целом и методов пробоподготовки в частности [1–6]. Наряду с классическими методами пробоподготовки, такими как жидкостно-жидкостная экстракция [7–10] или твердофазная экстракция (ДФЭ) [11–16] в последние двадцать пять лет происходило бурное развитие микроэкстракционных жидкофазных [17–21] и твердофазных [22–25] методов выделения и концентрирования органических соединений. За это время появилось много новых методов микроэкстракционного концентрирования, таких как капельная микроэкстракция (single-drop microextraction, 1996 г.) [26, 27], мембранная микроэкстракция в полое волокно (hollow fiber liquid-phase microextraction, 1999 г.) [26, 28, 29], дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция (dispersive liquid-liquid microextraction, 2006 г.) [30, 31], гомогенная жидкостно-жидкостная микроэкстракция (homogeneous liquid-liquid

microextraction, 2009 г.) [32, 33], твердофазная микроэкстракция пипеткой (pipette-tip solid-phase microextraction, 1989 г.) [34–36], твердофазная микроэкстракция (solid phase microextraction, 1990 г.) [37–39], экстракция палочкой магнитной мешалки (stir-bar sorptive extraction, 1999 г.) [40, 41], магнитная твердофазная экстракция (magnetic solid-phase extraction, 1999 г.) [42], дисперсионная твердофазная экстракция (dispersive solid-phase extraction, 2003 г.) [43], микроэкстракция в набивном патроне (microextraction by packed sorbent, 2004 г.) [44, 45]. Ссылки на последние обзоры, описывающие перечисленные методы микроэкстракционного концентрирования органических соединений, приведены ранее.

В настоящей публикации обобщены обзорные статьи, описывающие два метода твердофазной экстракции органических соединений: дисперсионную твердофазную экстракцию (ДФЭ) и магнитную твердофазную экстракцию (МДФЭ). Дана общая характеристика методов, рассмотрены

способы осуществления, перечислены экспериментальные параметры, влияющие на эффективность концентрирования органических соединений, обсуждены основные типы сорбентов, приведены примеры практического применения методов в процессе пробоподготовки различных объектов. В первую очередь проанализированы обзоры, опубликованные за период с 2010 по 2023 гг., в названии которых присутствовали термины *dispersive solid-phase extraction* [46–57] и *magnetic solid-phase extraction* [58–96] (табл. 1, 2). Кроме того, проанализированы отдельные разделы, посвященные ДТФЭ и МТФЭ, в ряде других обзорных публикаций, они будут детально рассмотрены далее [97–129]. Обзорные статьи, посвященные применению этих методов для концентрирования неорганических соединений, в данной публикации не рассматривались [130–137]. Мы надеемся, что систематизация информации по ДТФЭ и МТФЭ привлечет дополнительное внимание аналитиков к этим методам и будет полезной при разработке новых экологически безопасных методик определения органических соединений, соответствующих требованиям не только зеленой аналитической химии [77, 138, 139], но и белой аналитической химии (*White Analytical Chemistry*) [140, 141] – усовершенствованной концепции зеленой аналитической

химии, учитывающей, кроме экологической составляющей, аналитические характеристики метода и его экономическую составляющую.

ДИСПЕРСИОННАЯ ТВЕРДОФАЗНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ

Общая характеристика и способы осуществления. Перечень обзоров, посвященных дисперсионной твердофазной экстракции органических соединений, в хронологическом порядке дан в табл. 1.

Дисперсионная твердофазная экстракция основана на извлечении аналитов небольшим количеством сорбента (несколько мг или мкг), диспергированным в фазе анализируемого раствора. По существу ДТФЭ относится к давно известному и широко используемому процессу концентрирования, который в русскоязычной литературе получил название “сорбционное концентрирование в статических условиях” [97], с той только разницей, что в ДТФЭ в качестве сорбентов используют современные высокоэффективные микро- и наносорбенты, обладающие высокоразвитой поверхностью [47].

Интересно проследить за историей возникновения термина “дисперсионная твердофазная

Таблица 1. Хронология обзоров, посвященных дисперсионной твердофазной экстракции

Год	Тематика обзора	Литература
2015	Общие аспекты ДТФЭ: основные принципы и ранние приложения	[46]
2017	Основные типы микро- и наносорбентов, нашедших применение в ДТФЭ.	[47]
	ДТФЭ для определения ветеринарных лекарств в пище.	[48]
	Металлоорганические каркасы – новый класс сорбентов для ДТФЭ	[49]
2019	Теоретические основы ДТФЭ. Достоинства и недостатки ДТФЭ по сравнению с твердофазной микроэкстракцией.	[50]
	Способы осуществления ДТФЭ. Основные типы сорбентов. Сочетание с методами определения, автоматизация. Перспективы развития	[51]
2020	Достижения и перспективы применения функционализированных наноматериалов в ДТФЭ.	[52]
	Тенденции в разработке сорбентов для ДТФЭ.	[53]
	Обзор новых материалов для ДТФЭ	[54]
2021	Применение ДТФЭ для выделения ПАУ* из вод.	[55]
	Полимеры с молекулярными отпечатками в ДТФЭ	[56]
2022	Синтез полиионных жидкостей на основе имидазолия с различными заместителями и их применение в ДТФЭ	[57]

* ПАУ – полициклические ароматические углеводороды.

Таблица 2. Хронология обзоров, посвященных магнитной твердофазной экстракции

Год	Тематика обзора	Литература
2010	Синтез, модифицирование и применение магнитных наноматериалов для концентрирования органических соединений в объектах окружающей среды методом МТФЭ	[58]
2011	Общая характеристика различных магнитных сорбентов и примеры их применения для выделения и концентрирования органических соединений из вод	[59]
2013	Общая характеристика МТФЭ и ранние приложения (2008–2013 гг.)	[60]
2014	Синтез и применение функционализированных магнитных наноматериалов для концентрирования органических соединений в объектах окружающей среды методом МТФЭ.	[61]
	Примеры функционализации поверхности магнитных наночастиц магнетита, их свойства и применение для концентрирования.	[62]
	Общая характеристика МТФЭ и ее применение в анализе объектов окружающей среды, биологических объектов и продуктов питания.	[63]
	Синтез, модифицирование и применение магнитных сорбентов для концентрирования пестицидов методом МТФЭ	[64]
2015	Применение МТФЭ для выделения и концентрирования пестицидов и некоторых других органических соединений из различных объектов.	[65]
	Способы получения магнитных углеродных нанотрубок и примеры их применения в анализе объектов окружающей среды с использованием МТФЭ	[66]
2016	Классификация магнитных сорбентов, примеры их применения для МТФЭ органических соединений при анализе объектов окружающей среды, пищевых продуктов и биологических жидкостей (2011–2015 гг.).	[67]
	Общая характеристика магнитных наноматериалов и их применение в аналитической химии. Автоматизация МТФЭ, сочетание с ДЖЖМЭ* (2010–2016 гг.).	[68]
	Магнитные углеродсодержащие материалы в МТФЭ при анализе объектов окружающей среды	[69]
2017	МТФЭ для выделения и концентрирования лекарственных веществ из биологических матриц (2009–2016 гг.).	[70]
	Магнитные металлоорганические каркасы в МТФЭ органических соединений.	[71]
	Магнитные полимеры с молекулярными отпечатками в МТФЭ для выделения и концентрирования лекарственных веществ.	[72]
	Подходы к синтезу магнитных полимеров с молекулярными отпечатками и примеры их применения в анализе объектов окружающей среды и продуктов питания	[73]
2018	Магнитные углеродсодержащие композиты: синтез, свойства и применение в МТФЭ	[74]
2019	МТФЭ для выделения и концентрирования органических соединений из пищевых продуктов	[75]

Таблица 2. Окончание

	Применение композитов на основе углеродных нанотрубок в МТФЭ.	[76]
	МТФЭ в пробоподготовке различных объектов при определении в них лекарств, пестицидов, ПАУ**, токсинов и др.	[77]
	Многофункциональные магнитные композиты в МТФЭ при анализе объектов окружающей среды (2014–2019 гг.)	[78]
2020	Магнитные нанокompозитные сорбенты на основе оксида графена в МТФЭ.	[79]
	Синтез и применение магнитных сорбентов в анализе объектов окружающей среды (воды, почвы, воздух).	[80]
	Синтез и применение магнитных сорбентов в анализе пищевых продуктов	[81]
	Синтез и применение магнитных наночастиц в анализе пищевых продуктов (2016–2020 гг.)	[82]
	Магнитные пористые органические каркасы: синтез и применение в МТФЭ. МТФЭ стойких органических загрязнителей из вод (2015–2019 гг.)	[83] [84]
2021	Последние достижения в разработке сорбентов для МТФЭ, подходы к выбору сорбента (2017–2021 гг.).	[85]
	Магнитные металлоорганические каркасы в МТФЭ пестицидов.	[86]
	Применение МТФЭ в фитохимическом анализе.	[87]
	Применение магнитных наноматериалов в анализе объектов окружающей среды и пищевых продуктов.	[88]
	Синтез и применение в МТФЭ магнитных композитов на основе циклодекстринов.	[89]
	Магнитные сорбенты на основе ионных жидкостей и их применение в анализе объектов окружающей среды	[90]
2022	Синтез, классификация и применение магнитных полимеров с молекулярными отпечатками в анализе объектов окружающей среды, биологических жидкостей и пищевых продуктов (2016–2020 гг.)	[91]
	Классификация магнитных композитных наносорбентов и примеры их применения в анализе объектов окружающей среды (2019–2022 гг.).	[92]
	Магнитные сорбенты на основе ионных жидкостей и их применение в МТФЭ различных объектов.	[93]
	Применение магнитных полимеров с молекулярными отпечатками в МТФЭ пестицидов.	[94]
	Дизайн, получение и применение магнитных наносорбентов в анализе пищевых продуктов	[95]
2023	Магнитные металлоорганические каркасы в МТФЭ пищевых продуктов	[96]

* ДЖЖМЭ – дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция, ** ПАУ – полициклические ароматические углеводороды.

экстракция”. В 2003 году Анастасиадес и его коллеги [43] для одновременного мультиклассового извлечения остатков пестицидов из пищевых продуктов с высоким содержанием воды предложили использовать новый способ пробоподготовки,

названный ими QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe – быстро, просто, дешево, эффективно, надежно и безопасно). Суть метода заключалась в одновременном извлечении пестицидов (до 200 соединений) из овощей

и фруктов ацетонитрилом в присутствии большого количества солей (преимущественно сульфата магния) и последующей очистке экстракта с помощью аминсорбента PSA. В процессе очистки экстрактов мешающие определению вещества переходят в фазу сорбента, а искомые аналиты остаются в растворе. Процесс очистки экстрактов от пигментов, сахаров, липидов и других мешающих определению пестицидов веществ авторы предложили описывать термином *dispersive solid-phase extraction, DSPE*. Термин прижился во многом благодаря популярности метода QuEChERS [98–100], и со временем его стали применять не только для обозначения процесса очистки экстрактов, но и в методе сорбционного выделения и концентрирования аналитов, основанном на использовании небольших количеств микро- и наносорбентов. Чтобы подчеркнуть различие в разных вариантах одного и того же метода, для второго варианта в некоторых последних работах предложено использовать термин *dispersive micro-solid phase extraction* [47, 50, 51, 53] или *dispersive (micro) solid-phase extraction (D- μ -SPE)* [55, 56]. Историческая справка о развитии этих двух различных вариантов ДТФЭ дана в обзоре [48].

В обзоре [50] отмечается, что существенными преимуществами ДТФЭ по сравнению с традиционной ТФЭ являются снижение расхода сорбента, сокращение времени сорбции или десорбции, простота осуществления концентрирования, низкая стоимость. Основные ограничения ДТФЭ, связанные с проведением операций фильтрования или центрифугирования, успешно преодолеваются за

счет применения магнитных сорбентов в магнитной дисперсионной ТФЭ (см. далее).

Процедура дисперсионной твердофазной экстракции подробно описана в нескольких ранних обзорах [46, 47, 50]. Она включает добавление выбранного сорбента к анализируемому раствору, встряхивание сорбента с раствором, отделение сорбента с выделенными целевыми аналитами фильтрованием или центрифугированием и последующее элюирование относительно небольшим количеством органического растворителя (рис. 1). За счет диспергирования сорбента в анализируемом растворе перенос аналита к частицам сорбента происходит быстрее, чем в классическом варианте ТФЭ с использованием колонок, картриджей или дисков, что приводит к значительному сокращению времени анализа. В отличие от ТФЭ, в ДТФЭ появляется возможность использования микро- и наносорбентов, применение которых в ТФЭ невозможно из-за создаваемого ими высокого противодавления, затрудняющего прохождение образца через картридж или колонку. Уменьшение количества используемых сорбентов неизбежно приводит к уменьшению объема элюирующих растворителей, что делает ДТФЭ более экологически безопасным, более “зеленым” методом. Кроме того, в ДТФЭ исчезают проблемы, связанные с засорением картриджей, необходимостью их подготовки и кондиционирования.

Для интенсификации процесса диспергирования сорбента помимо ДТФЭ с механическим перемешиванием сорбента с помощью шейкеров предложены варианты ДТФЭ с ультразвуковым или вихревым диспергированием сорбента,

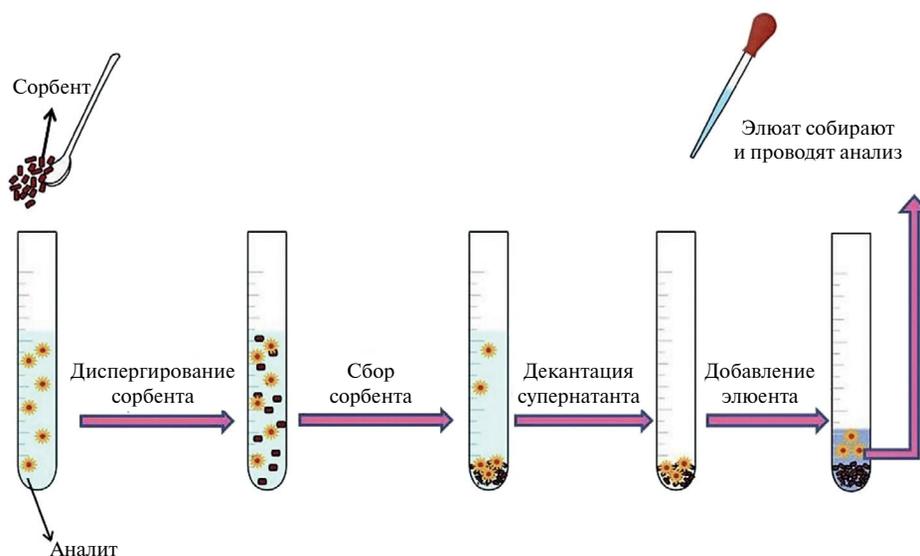


Рис. 1. Схема проведения дисперсионной твердофазной экстракции [47].

достоинства и ограничения которых описаны в обзорах [50, 51]. Эти варианты ДТФЭ получили название ДТФЭ с ультразвуковым диспергированием (ultrasonic assisted dispersive solid-phase extraction) и ДТФЭ с вихревым диспергированием (vortex-assisted dispersive solid-phase extraction).

В качестве источника ультразвука в ДТФЭ с ультразвуковым диспергированием используют ультразвуковой волновод или ультразвуковую ванну, причем обработку проб ультразвуком применяют не только на этапе сорбции или десорбции аналитов, но и для предварительного диспергирования частиц сорбента, обладающих повышенной склонностью к агрегации и агломерации. Возникающие в результате воздействия ультразвука механические эффекты (ударные волны), в основе появления которых лежит такое явление, как кавитация, способствуют уменьшению размера частиц сорбента, и, следовательно, увеличению площади его поверхности, что, в свою очередь, приводит к значительному сокращению времени сорбции/десорбции и количества используемого сорбента [50, 51, 101]. Несмотря на ряд достоинств, присущих ультразвуковому диспергированию, оно не лишено недостатков. Под воздействием ультразвука происходит нагревание образца, вследствие чего могут разрушаться (деградировать) не

только сорбент, но и некоторые аналиты. Кроме того, в ряде случаев в процессе ультразвукового диспергирования образуется термодинамически устойчивая взвесь сорбента, что затрудняет его отделение на стадии центрифугирования.

Вихревое диспергирование сорбента осуществляют с помощью лабораторных вихревых смесителей, скорость вращения, как правило, составляет 2500 – 3200 об/мин [50]. При быстром вращении емкости с исследуемой жидкостью в среде развивается турбулентность – трехмерное нестационарное движение жидкости, в котором непрерывно возникают и распадаются элементы турбулентного потока – вихри. Беспорядочное перемещение вихрей приводит к интенсивному перемешиванию сорбента с анализируемым раствором, усилению массопереноса, а в ряде случаев и к уменьшению размера частиц легко диспергируемых сорбентов.

Еще один вариант ДТФЭ связан с диспергированием сорбента углекислым газом (effervescence-assisted dispersive solid phase extraction) [51, 102]. В этом варианте перемешивание раствора осуществляется не механически, а за счет углекислого газа, который выделяется в результате кислотно-основной реакции. Сорбент прессуют с карбонатом натрия и твердой кислотой и вводят в анализируемый раствор в виде “шипучей” таблетки. При

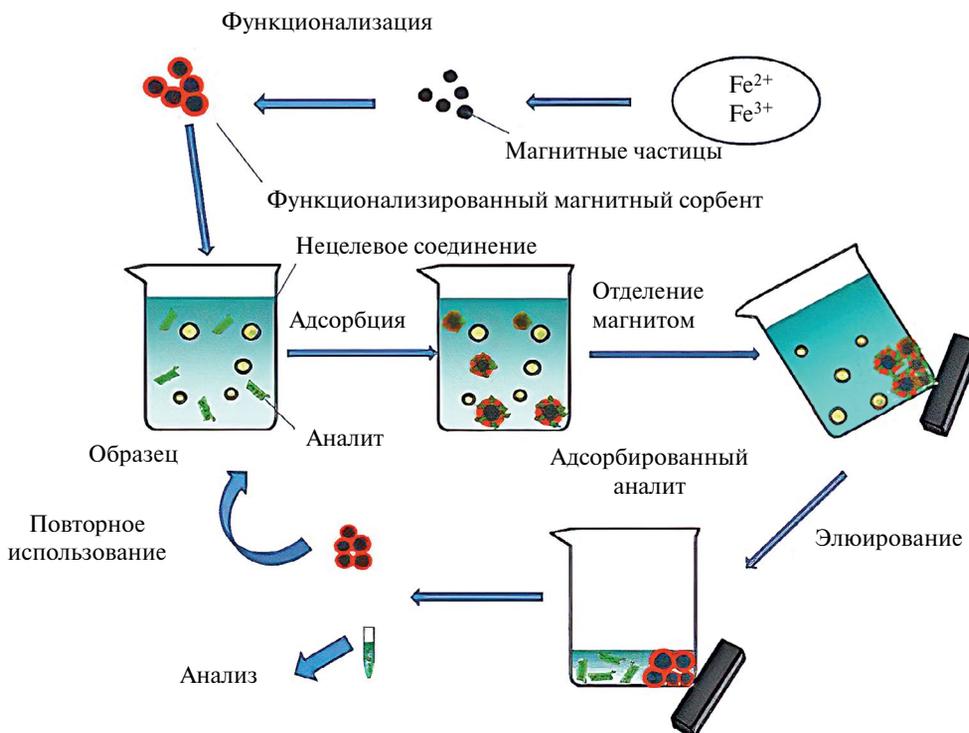


Рис. 2. Схема проведения магнитной твердофазной экстракции [60].

взаимодействии компонентов таблетки с водой образуются пузырьки углекислого газа, в результате чего сорбент диспергируется в растворе пробы. Таким образом, отпадает необходимость в перемешивающих устройствах, упрощается процедура выделения веществ, а в растворе создается буферная смесь, обеспечивающая требуемое значение рН и ионную силу, повышая эффективность извлечения аналитов.

Экспериментальные параметры, влияющие на ДТФЭ, систематизированы в ряде обзоров [50, 52, 53, 55]. Эффективность концентрирования аналитов этим методом зависит от природы и структурных особенностей используемых сорбентов, размера частиц сорбента и его количества, способа диспергирования, природы и свойств растворителя на этапе элюирования, рН и солевого состава раствора. Несмотря на важность каждого из перечисленных ранее факторов, все же определяющую роль для достижения количественного извлечения играют особенности сорбента и его родство к аналиту. Сорбцию органических соединений обычно рассматривают с позиций различных типов межмолекулярных взаимодействий сорбент–сорбат, таких как ван-дер-ваальсовы, гидрофобные и электростатические взаимодействия, а также образование водородных связей. Важнейшими характеристиками сорбентов, определяющими их сорбционную способность, являются удельная поверхность и размеры пор, тогда как размер частиц сорбента влияет на скорость адсорбции. С увеличением удельной поверхности сорбентов увеличивается их сорбционная емкость, которую обычно определяют путем построения изотерм сорбции. В перечисленных ранее обзорах можно найти ссылки на оригинальные статьи, в которых влияние этих факторов рассмотрено более подробно.

Основные типы сорбентов для дисперсионной твердофазной экстракции. Классификация сорбентов, нашедших применение в ДТФЭ, дана в обзоре [53]. Авторы отмечают, что на момент написания обзора существовало по крайней мере пять групп сорбентов, различающихся по своему химическому составу: наноматериалы или композиты на основе углерода (42%), оксиды металлов и неметаллов и их производные (32%), металлоорганические каркасы (12%), полимерные материалы (8%), полимеры с молекулярными отпечатками (6%). В свою очередь наноматериалы на основе углерода также были классифицированы на три подгруппы, включая графен и его производные (19%), углеродные нанотрубки (11%), другие материалы на основе углерода (12%). В скобках указана частота

публикаций на момент написания обзора (2020 г.). Рассмотрим особенности перечисленных классов сорбентов более подробно.

Наноматериалы и композиты на основе углерода. Информация о применении графена, одно- и многостенных углеродных нанотрубок и других наноматериалов и композитов на основе углерода в ДТФЭ приведена в обзорах [47, 50–55]. Уникальные сорбционные свойства углеродсодержащих наноматериалов обусловлены особенностями наноструктуры и поверхности этих сорбентов, способностью к различным взаимодействиям (гидрофобным, диполь-дипольным, π – π -взаимодействиям, образованию водородных и других связей), большой площадью поверхности, высокой пористостью, хорошими кинетическими свойствами, химической, механической и термической устойчивостью. Кроме того, наноматериалы на основе углерода отличаются относительной легкостью их модифицирования, что открывает широкие возможности для направленного синтеза различных композитов на их основе. Гидрофобность и уникальные морфологические характеристики этого класса сорбентов обеспечивают эффективное извлечение органических соединений, особенно ароматических, по сравнению с другими сорбционными материалами. Следует отметить, что среди углеродных наноматериалов более высокой диспергируемостью обладают окисленные углеродные нанотрубки и оксид графена, на поверхности которых содержится большое число полярных функциональных групп (в основном – COOH), кроме того, они обладают высоким сродством к полярным соединениям. Однако наноразмерные углеродные материалы редко используются индивидуально, поскольку они склонны к агрегации [51, 55].

Оксиды металлов и неметаллов и их производные. Среди этих материалов чаще других применяют материалы на основе оксида кремния [16, 54, 55] и магнитных наночастиц оксида железа (Fe_3O_4) [52–55], которые в качестве сорбентов в основном нашли применение в магнитной дисперсионной ТФЭ (см. далее).

Металлоорганические каркасы (metal-organic frameworks, MOF) представляют собой класс гибридных металлоорганических координационных полимеров, решеточная структура которых состоит из ионов или малых кластеров металлов, связанных органическими лигандами. Эти материалы характеризуются большой площадью поверхности, наличием однородных структурированных полостей с контролируемым в процессе синтеза размером пор (от ~0.3 до ~10 нм), высокой

адсорбционной способностью, сверхнизкой плотностью (до 0.13 г/см^3), достаточной механической прочностью и термической стабильностью (от ~ 300 до $\sim 600 \text{ }^\circ\text{C}$). В последние годы металлоорганические каркасы (МОК) все чаще используются в качестве новых материалов в аналитической химии [103, 104]. Применению металлоорганических каркасов в ДТФЭ посвящен обзор [49] и отдельные разделы в обзорах [47, 53–55]. В этих обзорах приведена классификация металлоорганических каркасов и композитов на их основе, нашедших применение в ДТФЭ, обсужден механизм взаимодействия с сорбируемыми соединениями, приведены многочисленные примеры использования этих сорбентов для выделения органических соединений из самых разнообразных объектов.

Полимерные материалы. В настоящее время разработано большое количество коммерческих полимерных сорбентов, нашедших применение не только в ТФЭ, но и в ДТФЭ [53, 54, 105]. Полимерные пористые сорбенты относят к универсальным сорбентам, применимым для выделения различных классов органических соединений. Их преимущества перед другими пористыми материалами заключаются в присущем им функциональном разнообразии и физико-химической устойчивости, особенно к воде, при очень большой площади поверхности, высокой гидрофобности, легкости элюирования, легкости и полноте термодесорбции.

Среди коммерческих полимерных сорбентов, следует отметить наиболее широко применяемые на данный момент бифункциональные сорбенты марки Oasis (Oasis HLB, Oasis MCX, Oasis MAX) – сополимеры с высокой степенью сшивки неполярных стирола, дивинилбензола и полярного винилпирролидона [105]. Аббревиатура HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance) в названии сорбента Oasis HLB отражает два его важных уникальных свойства: способность смачиваться водой и способность сорбировать и удерживать большое число полярных и неполярных молекул. Сорбент Oasis MCX (Mixed-mode Cation eXchange sorbent for bases) содержит на своей поверхности сильные катионообменные сульфогруппы и является полимером со смешанной обращенно-фазовой и катионообменной функциональностью. По сравнению с сорбентом Oasis HLB он обладает особой избирательностью к основным веществам. Напротив, сорбент Oasis MAX (Mixed-mode Anion eXchange sorbent for acids), на поверхности которого расположены сильные анионообменные четвертичные аммониевые группы, является полимером со смешанной обращенно-фазовой и анионообменной

функциональностью. Главное различие между Oasis HLB и Oasis MAX – особая избирательность последнего к органическим молекулам с кислотными свойствами.

Примером еще одного вида полимеров с высокой степенью сшивки сополимеров стирола и дивинилбензола являются сверхсшитые полистиролы (ССПС) [106, 107]. Сверхсшитые полистиролы отличаются необычайно жесткой нанопористой структурой с большой площадью удельной поверхности (до $1500 \text{ м}^2/\text{г}$) в сочетании с аномально высокой площадью поверхности, приходящейся на микропоры ($513 \text{ м}^2/\text{г}$) (у остальных сорбентов $7\text{--}24 \text{ м}^2/\text{г}$). Эти особенности позволяют обеспечить так называемую структурную селективность: энергия взаимодействия органических соединений с поверхностью сорбента в микропорах, размеры которых сопоставимы с размерами молекул сорбата, выше, чем на поверхности мезо- и макропор. Другое уникальное свойство ССПС заключается в том, что он представляет собой так называемый материал ограниченного доступа. Его поры диаметром $1.5\text{--}3 \text{ нм}$ доступны большинству низкомолекулярных веществ, но недоступны для таких крупных молекул, как белки, гликопротеины или полисахариды. Более подробно со свойствами ССПС и примерами их использования для сорбционного концентрирования не только гидрофобных, но и гидрофильных органических соединений можно ознакомиться в обзоре [107].

Полимеры с молекулярными отпечатками (ПМО) относятся к числу наиболее перспективных материалов, предложенных в последнее время для селективного выделения и концентрирования органических соединений. Это новое поколение сорбентов, которые принципиально отличаются от других сорбентов способами синтеза, структурой и свойствами. Благодаря наличию в составе этих сорбентов высокоспецифичных центров связывания (сайтов молекулярного распознавания), комплементарных по размеру, форме и структуре определенным органическим молекулам, ПМО способны селективно связывать, “узнавать” эти молекулы среди множества других и удерживать их за счет нековалентных взаимодействий различной природы. Растущее внимание со стороны исследователей, работающих в области сорбционного концентрирования, к этим новым материалам связано с рядом достоинств, которыми они обладают. Прежде всего, эти полимеры можно рассматривать в качестве синтетических рецепторов, принцип действия которых основан на эффекте молекулярного распознавания. Технология

молекулярного импринтинга позволяет получать сорбенты, обладающие управляемой и высокой селективностью по отношению, в принципе, к любому органическому соединению. В отличие от более сложных биологических рецепторов, ПМО обладают высокой устойчивостью к химическим и физическим воздействиям: их можно хранить в течение нескольких лет без потери памяти сайтов молекулярного распознавания. Эти материалы отличаются простотой получения и относительно низкой стоимостью. Применению ПМО в ДТФЭ посвящен обзор [56] и отдельные разделы в обзорах [47, 53–55, 108]. В этих обзорах рассмотрены общие подходы к синтезу ПМО, а именно: к выбору мономеров, сшивающих агентов и молекул-темплатов, а также приведены примеры их применения для селективного выделения различных органических соединений методом ДТФЭ.

Практическое применение. В химическом анализе дисперсионную твердофазную экстракцию применяют, как уже упоминалось ранее, в двух вариантах: в методе QuEChERS – для очистки экстрактов, получаемых в процессе пробоподготовки различных объектов, и в формате дисперсионной твердофазной экстракции – для сорбционного выделения и концентрирования органических соединений, основанного на использовании небольших количеств микро- и наносорбентов.

В обзорах, посвященных методу QuEChERS [98–100], можно найти информацию о способах осуществления пробоподготовки QuEChERS, а также о сорбентах, нашедших применение для очистки ацетонитрильных экстрактов, получаемых в процессе пробоподготовки анализируемых проб. Отмечается, что наряду с аминсорбентом PSA для очистки экстрактов методом ДТФЭ можно применять и другие сорбенты: оксид алюминия, графитированную сажу, C18, многостенные углеродные трубки и ряд других.

В рамках настоящего обзора мы проанализировали обзоры, посвященные дисперсионной твердофазной экстракции (табл. 1). В этих обзорах и отдельных разделах других обзоров, в таблицах приведены примеры применения ДТФЭ для концентрирования органических соединений из объектов окружающей среды [47, 48, 50, 53, 54, 56, 57], пищевых продуктов [47, 48, 50, 53, 54, 56, 109], биологических объектов [47, 50, 53, 54, 56, 57]. Отдельные обзоры и разделы в обзорах посвящены применению ДТФЭ для концентрирования ветеринарных лекарств [48,], ПАУ [55], полифенолов [110, 111], пестицидов [112], бисфенолов [113]. Как правило, ДТФЭ органических соединений применяют

в качестве эффективного способа пробоподготовки разнообразных по составу и сложности объектов с последующим определением органических соединений методами газовой хроматографии, высокоэффективной жидкостной хроматографии или капиллярного электрофореза.

МАГНИТНАЯ ТВЕРДОФАЗНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ

В последние годы наблюдается заметное увеличение количества публикаций не только оригинальных статей, но и обзоров, посвященных магнитной твердофазной экстракции, что свидетельствует о популярности этого метода среди аналитиков. В настоящей статье мы обобщили обзоры, в которых обсуждаются не только способы синтеза магнитных сорбентов, их классификация, но и особенности их применения в МТФЭ для выделения и концентрирования различных органических соединений. Эти обзоры в хронологическом порядке перечислены в табл. 2. Историческая справка о развитии метода МТФЭ дана в обзорах [70, 72, 77, 89]. Поскольку МТФЭ имеет много общего с ДТФЭ, то в последнее время наряду с термином “магнитная твердофазная экстракция” все чаще встречается и термин “дисперсионная магнитная твердофазная экстракция”.

Общая характеристика и способы осуществления. Магнитная твердофазная экстракция представляет собой усовершенствованную версию ДТФЭ. Пробоподготовка с использованием МТФЭ включает несколько стадий: активацию магнитного сорбента промыванием подходящим растворителем, встряхивание сорбента с анализируемым раствором в течение определенного времени, отделение сорбента при помощи магнита, его промывание для удаления остатков анализируемого раствора, элюирование целевых компонентов и повторное отделение с помощью внешнего магнитного поля (рис. 2). Увеличение площади контакта фаз за счет равномерного распределения магнитного сорбента в растворе обеспечивает быстрый массоперенос, а применение магнитной сепарации вместо стадии центрифугирования или фильтрации заметно упрощает и ускоряет процесс пробоподготовки по сравнению не только с ТФЭ, но и с ДТФЭ.

В большинстве случаев МТФЭ проводят в режиме офлайн добавлением сравнительно небольшого количества магнитного сорбента (4–250 мг) к водному раствору анализируемой пробы (10–250 мл) и последующим перемешиванием. Начали появляться работы, в которых диспергирование

магнитного сорбента осуществляют пузырьками углекислого газа [102]. Кроме того, в последние годы магнитные сорбенты используют и в сочетании с дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракцией [68, 80, 85]. На первом этапе к анализируемому раствору добавляют смесь экстрагента (органического растворителя, плохо или совсем не смешивающегося с водой) и диспергирующего растворителя (органического полярного растворителя, хорошо смешивающегося с водой и способного растворять экстрагент) и встряхивают образующуюся эмульсию несколько минут. Затем к эмульсии добавляют магнитный сорбент, на котором и выделяют аналиты. В ряде случаев в качестве экстрагентов на первом этапе используют ионные жидкости [114] или глубокие эвтектические растворители [115]. В режиме онлайн концентрирование проводят методом капиллярной магнитной ТФЭ (magnetic in-tube solid-phase microextraction) на магнитной капиллярной колонке, которую помещают в петлю инжектора жидкостного хроматографа [116].

Экспериментальные параметры. В процессе МТФЭ варьируют такие параметры, как количество магнитного сорбента, состав и объем анализируемого раствора, тип и количество растворителя, используемого на этапе элюирования. В информативных таблицах, приведенных в обзорах [59, 60, 63, 67, 69, 77, 80, 84, 87, 89, 90, 92, 93, 95], указаны количества магнитных сорбентов, которые в зависимости от объема анализируемого раствора (10–500 мл) изменяются от 5 до 300 мг. В отдельных случаях, например при анализе биологических жидкостей, масса сорбента может быть уменьшена до 0.5–1 мг, а объем пробы – до 0.5–1 мл. Не менее важным является выбор подходящего типа и количества растворителя, используемого для элюирования аналитов. Растворитель должен иметь достаточную элюирующую способность для количественного удаления небольшого количества аналитов с поверхности сорбента. В качестве элюентов применяют ацетонитрил, метанол, ацетон, гексан и ряд других растворителей [59, 60, 63, 66, 69, 70, 71, 77, 87, 91, 95]. В обзоре [84] на примере извлечения стойких органических загрязнителей подробно рассмотрено влияние на сорбцию таких параметров, как рН, ионная сила, присутствие гуминовых и фульвокислот.

Несмотря на значимость каждого из перечисленных ранее параметров, все же главным действующим лицом в МТФЭ является магнитный сорбент, от правильного выбора которого зависят эффективность и селективность выделения

органических соединений. Очевидно, что в первую очередь сорбент должен быть суперпарамагнитным и иметь высокое значение намагниченности насыщения, что обеспечит соответственно легкость его редиспергирования и быстрое отделение от растворов проб с помощью внешнего магнитного поля. После снятия поля суперпарамагнитный сорбент мгновенно теряет свои магнитные свойства и вновь переходит в суспензию. В качестве магнитного материала для создания сорбентов в методе МТФЭ в основном применяют наночастицы магнетита (Fe_3O_4), что обусловлено относительной простотой их синтеза, возможностью управлять их размерами путем варьирования условий синтеза и высокими по сравнению с другими оксидами железа магнитными характеристиками, а также низкой токсичностью. С различными способами синтеза наночастиц Fe_3O_4 можно ознакомиться в обзорах [63, 64, 67, 95]. Кроме того, в ряде обзоров перечислены и другие преимущества МТФЭ, обусловленные применением магнитных сорбентов на основе наночастиц Fe_3O_4 [60, 63, 68, 71, 77]. Отмечается, что магнитные наносорбенты, нашедшие применение в практике МТФЭ, отличаются большим разнообразием, что связано с практически неограниченной возможностью изменения сорбционных свойств наночастиц оксидов железа путем модифицирования их поверхности различными молекулами и функциональными группами, а также получения композитных материалов, содержащих наночастицы Fe_3O_4 . Наноразмерные магнитные сорбенты обладают большой площадью поверхности, высокой адсорбционной емкостью и высокой скоростью адсорбции, поэтому требуется небольшое количество сорбента и короткое время для извлечения аналитов из больших объемов анализируемых образцов. Кроме того, магнитные сорбенты отличаются легкой диспергируемостью в водном растворе, относительной химической инертностью, возможностью долгого хранения в водных растворах и повторного использования. В перечисленных ранее обзорах можно найти ссылки на оригинальные статьи, в которых влияние этих факторов рассмотрено более подробно. Ограничения метода магнитной ТФЭ связаны с тем, что синтез некоторых магнитных сорбентов отличается сложностью и длительностью.

Основные типы сорбентов для магнитной твердофазной экстракции. Общая схема синтеза магнитных сорбентов включает стадию получения наночастиц оксидов железа и ряд последующих стадий, связанных либо химическим модифицированием (функционализацией) их поверхности,

либо с получением магнитных композитов за счет внедрения (инкапсулирования) наночастиц Fe_3O_4 в матрицы различных материалов.

Направленное модифицирование поверхности наночастиц Fe_3O_4 позволяет повысить их агрегативную устойчивость, придать им заданные сорбционные свойства, а значит, обеспечить селективность метода. К настоящему времени известно много магнитных сорбентов со структурой ядро – неорганическая/органическая оболочка, синтезированных путем нековалентной или ковалентной иммобилизации на поверхности предварительно полученных наночастиц оксидов железа различных неорганических или органических соединений. К магнитным сорбентам со структурой ядро – неорганическая оболочка относят наночастицы оксидов железа, функционализированные оксидами металлов, углеродом ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{C}$) или оксидом кремния ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$). К магнитным сорбентам со структурой ядро–органическая оболочка относят наночастицы оксидов железа, функционализированные поверхностно-активными веществами, низкомолекулярными органическими соединениями, синтетическими или природными полимерами, ионными жидкостями. Более подробно с различными способами синтеза сорбентов со структурой ядро–оболочка можно ознакомиться в обзорах [59, 60–62, 67, 75, 81, 84].

Магнитные нанокompозитные материалы, в которых наночастицы оксидов железа внедрены в немагнитные матрицы, в последнее время находят все более широкое применение в качестве сорбентов в методе МТФЭ [78, 92, 117]. Они сочетают сорбционные свойства исходных материалов с возможностью управлять процессом сорбции при помощи магнитного поля. В зависимости от типа основной матрицы, занимающей большую часть объема нанокompозитного материала, различают магнитные композитные сорбенты на основе углеродсодержащих материалов [66, 69, 74, 76, 79], полимеров с молекулярными отпечатками [72, 73, 91, 94], металлоорганических каркасов [71, 86, 96], пористых органических каркасов [83] или циклодекстринов [68, 89].

Сравнительная характеристика наиболее широко используемых магнитных сорбентов, нашедших применение в химическом анализе, включающая методы синтеза, преимущества, ограничения, возможные взаимодействия и области применения, приведена в обзорах [85, 92]. В обзорах [94, 95] перечислены современные подходы, которые применяют для характеристики магнитных сорбентов, такие как оценка размера, формы и морфологии

частиц сорбента; определение элементного состава и удельной поверхности; оценка наличия и природы функциональных групп; оценка магнитных свойств. Далее более подробно рассмотрены сорбенты, методам синтеза и применению в анализе которых посвящены отдельные обзоры и большие разделы в других обзорах.

Магнитные углеродсодержащие материалы. Для получения магнитных нанокompозитных сорбентов особый интерес представляют такие углеродсодержащие материалы, как углеродные нанотрубки [60, 61, 66–68, 78, 80, 84, 117], графен или оксид графена [61, 68, 69, 74, 78–80, 84, 117] и графитированный нитрид углерода [69, 74, 78, 80, 84]. Их сорбционные свойства обусловлены высокой удельной поверхностью, развитой пористой структурой, гидрофобностью и рядом уникальных физико-химических характеристик, присущих углеродсодержащим материалам, таких, например, как способность к π – π -взаимодействиям между молекулами сорбата и поверхностью сорбента.

Можно выделить два основных подхода, нашедших применение для получения магнитных углеродсодержащих сорбентов. Первый заключается в формировании магнитных частиц Fe_3O_4 в матрице различных углеродных материалов, а второй – в адсорбции предварительно синтезированных наночастиц магнетита на поверхности этих материалов [67]. В соответствии с первым подходом синтез наночастиц Fe_3O_4 в порах углеродных сорбентов осуществляют химическим соосаждением железа (II) и (III) водным раствором аммиака или сольвотермальным способом путем диспергирования определенного количества углеродных сорбентов и хлорида железа (III) в этиленгликоле в присутствии ацетата натрия с последующим нагреванием полученной смеси в автоклаве при 200 °С в течение 16–18 ч. Согласно второму подходу навеску предварительно синтезированных наночастиц Fe_3O_4 диспергируют в различных органических растворителях и перемешивают с углеродными нанотрубками или графеном с помощью ультразвукового диспергатора в течение 5–15 мин.

Магнитные полимеры с молекулярными отпечатками, состоящие из неорганического магнитного ядра и импринтированной оболочки, обладают значительными преимуществами перед другими магнитными сорбентами, так как сочетают в себе селективность, обеспечиваемую ПМО, и эффективность процесса, обеспечиваемую наличием в их составе магнитной составляющей [61, 67, 72, 73, 78, 80, 91, 94]. Согласно классификации, приведенной в обзоре [91], различают три основных

подхода к получению магнитных материалов, содержащих полимеры с молекулярными отпечатками. В соответствии с первым подходом магнитные ПМО получают, проводя реакцию полимеризации в присутствии функционального мономера, сшивающего агента, инициатора, молекулы-темплата и свежеприготовленных наночастиц Fe_3O_4 . На заключительном этапе из полимерной сетки магнитного сорбента удаляют темплат многократным промыванием органическими растворителями. Несмотря на кажущуюся простоту этого подхода, он не всегда обеспечивает равномерность отпечатков на поверхности сорбента, его достаточную адсорбционную способность и гидрофильность. В соответствии со вторым подходом, который применяют чаще, в процессе синтеза магнитных ПМО в реакцию полимеризации вводят наночастицы Fe_3O_4 , модифицированные различными активными группами, в том числе участвующими в полимеризации. В плане повышения эффективности процесса определенным интересом представляет третий подход, согласно которому импринтированный слой ПМО формируют на поверхности углеродсодержащих (углеродные нанотрубки, графен и др.) и ряда других материалов предварительно функционализированных наночастицами Fe_3O_4 . В перечисленных ранее обзорах приведены схемы многостадийного синтеза магнитных ПМО и примеры их использования в анализе реальных объектов.

Несмотря на ряд существенных преимуществ магнитных ПМО, нельзя не отметить и имеющиеся недостатки. По сравнению с другими магнитными сорбентами процедура получения большинства магнитных ПМО сложна и дорогостояща; импринтированные участки распределяются на поверхности сорбента не всегда равномерно; существуют проблемы с удалением из синтезированных материалов молекул-темплатов.

Магнитные металлоорганические каркасы представляют собой новые функциональные материалы, появившиеся в последние годы, но уже завоевавшие популярность исследователей, занимающихся проблемами концентрирования органических соединений, о чем свидетельствует информация, опубликованная в обзорах [71, 86, 118, 119]. Магнитные композиты на основе металлоорганических каркасов обладают всеми преимуществами, присущими этим высокопористым материалам с регулярной кристаллической структурой и однородным распределением пор по размеру и форме, а наличие магнитных наночастиц Fe_3O_4 в их составе облегчает отделение сорбентов от растворов анализируемых образцов с помощью внешнего магнитного поля.

Разнообразие металлов и органических линкеров — полидентатных органических молекул, используемых для получения микро- и мезопористых каркасов МОК, и различные подходы к приданию им магнитных свойств открывают почти безграничные возможности для использования этих композитов в качестве сорбентов в методе МТФЭ.

В обзоре [86] перечислены основные группы МОК, которые использовали для создания магнитных МОК, описаны способы их получения и последующего применения для извлечения пестицидов методом МТФЭ. Кроме того, методам синтеза магнитных композитов МОК посвящены отдельные разделы в обзорах [61, 71, 78, 82, 117–119]. Согласно данным, приведенным в этих обзорах, для получения магнитных МОК используют несколько подходов. Простейший способ заключается в смешивании предварительно синтезированных МОК и наночастиц Fe_3O_4 в растворе образца при обработке ультразвуком. За счет электростатических взаимодействий магнитные наночастицы прикрепляются к поверхности МОК, что позволяет извлекать МОК из матрицы образца под действием внешнего магнита. Согласно второму подходу магнитные МОК получают диспергированием выбранного МОК в смеси, содержащей реагенты для синтеза наночастиц Fe_3O_4 . Более сложные синтетические приемы заключаются в синтезе МОК в присутствии предварительно синтезированных и функционализированных наночастиц Fe_3O_4 , которые добавляют в раствор, содержащий как неорганические, так и органические предшественники целевого МОК. В зависимости от условий роста МОК морфология продукта может быть различной: от дискретных тонких покрытий на отдельных магнитных наночастицах до множества магнитных наночастиц, инкапсулированных в более крупные кристаллы МОК. И, наконец, один из самых сложных и длительных синтетических приемов заключается в послойном формировании каркаса (оболочки) МОК на наночастицах Fe_3O_4 , модифицированных анионообменными или хелатообразующими группами: сначала с функционализированным слоем связываются ионы металла, к которым затем присоединяются органические лиганды из раствора. После насыщения магнитных наночастиц раствором прекурсора металла их промывают чистым растворителем для удаления избытка несвязавшегося металла. После этого цикл завершают, повторяя ту же процедуру с использованием раствора прекурсора органического линкера.

Магнитные пористые органические каркасы. Пористые органические каркасы представляют собой новое поколение пористых материалов, построенных из органических мономеров посредством ковалентных связей. К пористым органическим каркасам относят сверхсшитые полимеры, ковалентные органические каркасы, пористые ароматические каркасы, ковалентные триазиновые каркасы, полимеры с собственной микропористостью, сопряженные микропористые полимеры и ряд других полимеров [83, 120, 121]. В различных областях аналитической химии в основном используют ковалентные органические каркасы [122]. В отличие от других типов пористых органических каркасов, ковалентные органические каркасы представляют собой двумерные и трехмерные упорядоченные кристаллические пористые структуры с очень высокой пористостью и большой удельной поверхностью, сравнимой в ряде случаев с металлоорганическими каркасами, но имеют более низкую плотность, чем последние. Отличительные особенности этих материалов, такие как большая площадь поверхности, контролируемый размер пор, высокая термическая и химическая устойчивость и ряд других, способствовали тому, что в последнее десятилетие эти материалы все чаще начали применять в качестве сорбентов в методах пробоподготовки [83, 123–125]. С различными способами получения магнитных ковалентных органических каркасов и примерами их применения в МТФЭ можно ознакомиться в обзорах [78, 83, 96, 117, 123–125].

Магнитные сорбенты на основе циклодекстринов. Циклодекстрины (ЦД) представляют собой циклические олигосахариды, молекулы которых имеют гидрофильную внешнюю часть и относительно гидрофобную центральную полость. Эта специфическая структурная особенность ЦД позволяет им образовывать комплексы включения хозяин–гость с соединениями надлежащего размера посредством слабых ван-дер-ваальсовых сил, гидрофобных взаимодействий и водородных связей. Благодаря этим уникальным свойствам, а также нетоксичности, биоразлагаемости, низкой стоимости и другим интересным свойствам, ЦД нашли применение в аналитической химии в качестве хиральных селекторов для проведения хроматографического или электрофоретического хирального разделения [126], а в последнее время и в качестве сорбентов для различных вариантов ТФЭ [127].

Следует отметить, что вследствие хорошей растворимости в воде в качестве сорбентов используют не сами ЦД, а композитные материалы на

их основе. В аналитической практике в основном используют β -циклодекстрин, так как размеры полости его молекулы в большей степени соответствуют размерам молекул органических веществ, и его растворимость ниже по сравнению с другими ЦД. Для получения композитов ЦД иммобилизуют на различных носителях (кремнеземе, углеродных нанотрубках, оксиде графена и др.), или проводят полимеризацию со специфическими сшивающими агентами с образованием так называемых наногубок на основе ЦД [127]. Согласно данным, приведенным в обзоре [89], существует несколько способов получения магнитных циклодекстрино-содержащих композитных материалов: иммобилизация на наночастицах Fe_3O_4 ; иммобилизация на наночастицах Fe_3O_4 , модифицированных кремнеземом; прививка ЦД к поверхности магнитных углеродных материалов; смешивание ЦД с магнитными полимерными материалами. Более подробно со способами получения магнитных композитных сорбентов на основе циклодекстринов и различными примерами их применения в МТФЭ можно ознакомиться в обзорах [68, 89, 127].

Магнитные сорбенты модифицированные ионными жидкостями (ИЖ). Уникальные свойства ИЖ предопределили их широкое использование в различных областях аналитической химии [128]. В методах пробоподготовки ИЖ с успехом используют в качестве растворителей в современных вариантах жидкостно-жидкостной микроэкстракции, а также в качестве функционализаторов сорбентов в различных вариантах ТФЭ [129]. Применению ИЖ в МТФЭ посвящены обзоры [90, 93] и отдельные разделы в обзорах [84, 129]. Функционализированные ИЖ магнитные сорбенты получают путем нековалентной или ковалентной иммобилизации ИЖ на поверхности предварительно синтезированных наночастиц Fe_3O_4 или магнитных нанокompозитных материалов. По сравнению с нековалентной иммобилизацией метод химического связывания позволяет получать более устойчивые магнитные наночастицы. Известно много синтетических приемов, позволяющих осуществить прививку ИЖ к поверхности различных материалов, с которыми более подробно можно ознакомиться в обзорах [84, 93]. В обзоре [93] перечислены основные типы функционализированных ионными жидкостями магнитных сорбентов, синтезированных к настоящему времени: на основе немодифицированных наночастиц Fe_3O_4 , кремнеземных материалов, углеродных наноматериалов, полимеров с молекулярными отпечатками, металлоорганических каркасов и некоторых других материалов. Примеры практического

применения таких магнитных сорбентов освещены в обзорах [84, 90, 93].

Практическое применение. Анализ обзорных работ, проведенный в рамках настоящего обзора, указывает на то, что МТФЭ нашла широкое применение в химическом анализе в качестве эффективного способа пробоподготовки различных по составу и сложности объектов с последующим определением органических соединений хроматографическими методами. Магнитную твердофазную экстракцию применяют для выделения и концентрирования органических соединений из объектов окружающей среды [58, 59, 63, 66, 67, 69, 73, 78, 80, 84, 89, 90, 91, 117], пищевых продуктов [63, 66, 67, 73, 75, 76, 81, 82, 89, 91, 95, 96], биологических объектов [63, 67, 70, 72, 76, 89, 91] и растений [87]. Отдельные обзоры и большие разделы в обзорах посвящены применению МТФЭ для концентрирования пестицидов [64, 65, 74, 76, 77, 86, 94, 112], стойких органических загрязнителей [84], ПАУ [77], лекарств [70, 72, 74, 77], соединений, разрушающих эндокринную систему [74, 77], токсинов [77], полифенолов [110], бисфенолов [113]. В цитируемых ранее обзорах приведены информативные таблицы, в которых указаны не только анализируемые объекты и аналиты, но и тип используемого магнитного сорбента, его количество, объемы анализируемых проб, природа и объемы элюента, степени выделения аналитов и диапазоны определяемых содержаний. Вопросам автоматизации процедуры МТФЭ посвящены отдельные разделы в обзорах [66, 71, 80, 85, 92].

* * *

Методы дисперсионной твердофазной экстракции и магнитной твердофазной экстракции представляют собой экологически безопасные, недорогие, быстрые и простые подходы к пробоподготовке, которые успешно используются для эффективного выделения органических соединений из различных объектов. Эти методы характеризуются минимальным количеством применяемых сорбентов и растворителей, простотой реализации процесса, высокими коэффициентами концентрирования. Развитие данных методов, очевидно, будет связано не только с расширением круга сорбируемых органических соединений, но и с дальнейшим поиском, синтезом и применением в анализе современных наноразмерных сорбентов, таких как металлоорганические каркасы, пористые органические каркасы, слоистые двойные гидроксиды, материалы с ограниченным доступом [54] или мезопористые кремнеземные материалы [142].

Несомненный интерес представляет получение и применение в анализе магнитных композитных материалов как на основе перечисленных ранее сорбентов, так и на основе экологически безопасных биологических материалов, таких как хитозан, циклодестрины [54, 85, 92, 117, 127] или аптамеры [85]. Еще одним направлением в области МТФЭ является получение новых магнитных сорбентов с высокой адсорбционной емкостью для одновременного выделения большого числа органических соединений. Общей и до конца не решенной проблемой является разработка автоматизированных систем, позволяющих проводить пробоподготовку и определение в режиме онлайн.

Методы ДТФЭ и МТФЭ отвечают большинству требований, предъявляемых к зеленым аналитическим методам [77, 138, 139]. Более того, эти методы вписываются в современную концепцию белой аналитической химии (White Analytical Chemistry) — усовершенствованную версию зеленой аналитической химии, учитывающую, кроме экологической составляющей, аналитические характеристики метода (область применения, пределы обнаружения и определения, точность и воспроизводимость результатов), а также его экономическую составляющую (общая стоимость анализа и т.п.), оперативность (наименьшее общее время анализа) и эксплуатационную простоту (максимально возможный уровень миниатюризации, интеграции, автоматизации) [140, 141].

Работа выполнена в рамках государственного задания, тема № АААА-А21-121011990021-7. Авторы выражают благодарность Междисциплинарной научно-образовательной школе Московского университета “Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pawliszyn J., Pedersen-Bjergaard S. Analytical microextraction: current status and future trends // J. Chromatogr. Sci. 2006. V. 44. P. 291.
2. Carasek E., Morés L., Merib J. Basic principles, recent trends and future directions of microextraction techniques for the analysis of aqueous environmental samples // Trends Environ. Anal. Chem. 2018. V. 19. Article e00060.
3. Jalili V., Barkhordari A., Ghiasvand A. Bioanalytical applications of microextraction techniques: A review of reviews // Chromatographia. 2020. V. 83. P. 567.
4. Soares da Silva Burato J., Medina D.A.V., de Toffoli A.L., Maciel E.V.S., Lanças F.M. Recent advances

- and trends in miniaturized sample preparation techniques // *J. Sep. Sci.* 2020. V. 43. P. 202.
5. Hansen F.A., Pedersen-Bjergaard S. Emerging extraction strategies in analytical chemistry // *Anal. Chem.* 2020. V. 92. P. 2.
 6. Pena-Pereira F., Bendicho C., Pavlović D.M., Martín-Esteban A., Díaz-Álvarez M., Pan Y., Cooper J., Yang Z., Safarik I., Pospiskova K., Segundo M.A., Psillakis E. Miniaturized analytical methods for determination of environmental contaminants of emerging concern – A review // *Anal. Chim. Acta.* 2021. V. 1158. Article 238108.
 7. Pedersen-Bjergaard S., Rasmussen K.E., Halvorsen T.G. Liquid–liquid extraction procedures for sample enrichment in capillary zone electrophoresis // *J. Chromatogr. A.* 2000. V. 902. P. 91.
 8. Luque de Castro M.D., Priego-Capote F. Ultrasound assistance to liquid–liquid extraction: A debatable analytical tool // *Anal. Chim. Acta.* 2007. V. 583. P. 2.
 9. Clement R.E., Hao C. Liquid–liquid extraction: Basic principles and automation / *Comprehensive Sampling and Sample Preparation.* 2012. V. 2. P. 51.
 10. Плетнев И.В., Смирнова С.В., Шведене Н.В. Новые направления применения ионных жидкостей в аналитической химии. 1. Жидкостная экстракция // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 74. №7. С.483.
 11. Buszewski B., Szulika M. Past, present, and future of solid phase extraction: A review // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2012. V. 42. P. 198.
 12. Płotka-Wasyłka J., Szczepańska N., de la Guardia M., Namieśnik J. Modern trends in solid phase extraction: New sorbent media // *Trends Anal. Chem.* 2016. V. 77. P. 23.
 13. Andrade-Eiroa A., Canle M., Leroy-Cancellieri V., Cerda V. Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review. Part II // *Trends Anal. Chem.* 2016. V. 80. P. 655.
 14. Zhang C., Xing H., Yang L., Fei P., Liu H. Development trend and prospect of solid phase extraction technology // *Chin. J. Chem. Eng.* 2021. V. 42. P. 7600.
 15. Loh S.H., Yahaya N., Ishak S.M., Wan Mohd Khalik W.M.A., Che Abdullah N.S., Aboul-Enein H.Y., Ong M.C. Recent trends in adsorbent-based microextraction of micropollutants in environmental waters // *Curr. Pollut. Rep.* 2021. V.7. P. 89.
 16. Wang D., Chen X., Feng J., Sun M. Recent advances of ordered mesoporous silica materials for solid-phase extraction // *J. Chromatogr. A.* 2022. V. 1675. Article 463157.
 17. Campillo N., Gavazov K., Viñas P., Hagarova I., Andruch V. Liquid-phase microextraction: Update May 2016 to December 2018 // *Appl. Spectrosc. Rev.* 2019. V. 55. P. 307.
 18. Rutkowska M., Płotka-Wasyłka J., Sajid M., Andruch V. Liquid–phase microextraction: A review of reviews // *Microchem. J.* 2019. V. 149. Article 103989.
 19. Yamini Y., Rezaeizadeh M., Seidi S. Liquid-phase microextraction – The different principles and configurations // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 112. P. 264.
 20. Jalili V., Barkhordari A., Ghiasvand A. New extraction media in microextraction techniques. A review of reviews // *Microchem. J.* 2020. V. 153. Article 104386.
 21. Kannouma R.E., Hammad M.A., Kamal A.H., Mansour F.R. Miniaturization of liquid-liquid extraction; the barriers and the enablers // *Microchem. J.* 2022. V. 182. Article 107863.
 22. Płotka-Wasyłka J., Szczepańska N., de la Guardia M., Namieśnik J. Miniaturized solid-phase extraction techniques // *Trends Anal. Chem.* 2015. V. 73. P. 19.
 23. Dugheri S., Mucci N., Cappelli G., Trevisani L., Bonari A., Bucaletti E., Squillaci D., Arcangeli G. Advanced solid-phase microextraction techniques and related automation: A review of commercially available technologies // *J. Anal. Methods Chem.* 2022. Article 8690569.
 24. Федотов П.С., Малофеева Г.И., Савонина Е.Ю., Спиваков Б.Я. Твердофазная экстракция органических веществ: нетрадиционные методы и подходы // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 74. С. 163.
 25. Płotka-Wasyłka J., Jatkowska N., Paszkie M., M. Caban, Fares M.Y., Dogan A., Garrigues S., Manousi N., Kalojiouri N., Nowak P.M., de la Guardia S.M. Miniaturized solid phase extraction techniques for different kind of pollutants analysis: State of the art and future perspectives – PART 1 // *Trends Anal. Chem.* 2023. V. 162. Article 117034.
 26. Дмитриенко С.Г., Апяри В.В., Толмачева В.В., Горбунова М.В. Жидкостная экстракция органических соединений в каплю экстрагента. Обзор обзоров // *Журн. аналит. химии.* 2021. Т. 76. С. 675. (Dmitrienko S.G., Apyari V.V., Tolmacheva V.V., Gorbunova M.V. Liquid–liquid extraction of organic compounds into a single drop of the extractant: Overview of reviews // *J. Anal. Chem.* 2021. V. 76. № 8. P. 907.)
 27. Kailasa S.K., Koduru J.R., Park T.J., Singhal R.K., Wu H.-F. Applications of single-drop microextraction in analytical chemistry: A review // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2021. V. 29. Article e00113.
 28. Esrafilı A., Baharfar M., Tajik M., Yamini Y., Ghambarian M. Two-phase hollow fiber liquid-phase microextraction // *Trends Anal. Chem.* 2018. V. 108. P. 314.
 29. Gjelstad A. Three-phase hollow fiber liquid-phase microextraction and parallel artificial liquid membrane extraction // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 113. P. 25.
 30. Дмитриенко С.Г., Апяри В.В., Толмачева В.В., Горбунова М.В. Дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция органических соединений. Обзор обзоров // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. № 10. С. 867. (Dmitrienko S.G., Apyari V.V., Tolmacheva V.V., Gorbunova M.V. Dispersive liquid–liquid microextraction of organic compounds: An overview of reviews // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. № 10. P. 1237.)

31. *Sajid M.* Dispersive liquid-liquid microextraction: Evolution in design, application areas, and green aspects // *Trends Anal. Chem.* 2022. V. 152. Article 116636
32. *Дмитриенко С.Г., Апыри В.В., Горбунова М.В., Толмачева В.В., Золотов Ю.А.* Гомогенная жидкостная микроэкстракция органических соединений // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. С. 963. (*Dmitrienko S.G., Apyari V.V., Gorbunova M.V., Tolmacheva V.V., Zolotov Yu A.* Homogeneous liquid-liquid microextraction of organic compounds // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. № 11. P. 1371.)
33. *Ramezani A.M., Ahmadi R., Yamini Y.* Homogeneous liquid-liquid microextraction based on deep eutectic solvents // *Trends Anal. Chem.* 2022. V. 149. Article 116566.
34. *Bordin D.C.M., Alves M.N.R., de Campos E.G., de Martinis B.S.* Disposable pipette tips extraction: Fundamentals, applications and state of the art: Sample preparation // *J. Sep. Sci.* 2016. V. 39. P. 1168.
35. *Turoňová D., Kujovská Krčmová L., Švec F.* Application of microextraction in pipette tips in clinical and forensic toxicology // *Trends Anal. Chem.* 2021. V. 143. Article 116404.
36. *Carasek E., Mores L., Huelsmann R.D.* Disposable pipette extraction: A critical review of concepts, applications, and directions // *Anal. Chim. Acta.* 2022. V. 1192. Article 339383.
37. *Reyes-Garces N., Gionfriddo E., Gomez-Rios G.A., Alam M.N., Boyaci E., Bojko B., Singh V., Grandy J., Pawliszyn J.* Advances in solid phase microextraction and perspective on future directions // *Anal. Chem.* 2018. V. 90. P. 302.
38. *Jalili V., Barkhordari A., Ghiasvand A.* A comprehensive look at solid-phase microextraction technique: A review of reviews // *Microchem. J.* 2020. V. 152. Article 104319.
39. *Nolvachai Y., Amaral M.S.S., Herron R., Philip J. Marriott.* Solid phase microextraction for quantitative analysis – Expectations beyond design? // *Green Anal. Chem.* 2023. V. 4. Article 100048.
40. *David F., Ochiai N., Sandra P.* Two decades of stir bar sorptive extraction: A retrospective and future outlook // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 112. P. 102.
41. *Hasan C.K., Ghiasvand A., Lewis T.W., Nesterenko P.N., Paull B.* Recent advances in stir-bar sorptive extraction: Coatings, technical improvements, and applications // *Anal. Chim. Acta.* 2020. V. 1139. P. 222.
42. *Šafaříková M., Šafařík I.* Magnetic solid-phase extraction // *J. Magn. Magn. Mater.* 1999. V. 194. P. 108.
43. *Anastassiades M., Lehotay S.J., Štajnbaher D., Schenck F.J.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “Dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce // *J. AOAC Int.* 2003. V. 86. P. 412.
44. *Yang L., Said R., Abdel-Rehim M.* Sorbent, device, matrix and application in microextraction by packed sorbent (MEPS): A review // *J. Chromatogr. B.* 2017. V. 1043. P. 33.
45. *Pereira J.A.M., Gonçalves J., Porto-Figueira P., Figueira J.A., Alves V., Perestrelo R., Medina S., Câmara J.S.* Current trends on microextraction by packed sorbent – Fundamentals, application fields, innovative improvements and future applications // *Analyst.* 2019. V. 144. P. 5048.
46. *Socas-Rodríguez B., Herrera-Herrera A.V., Asensio-Ramos M., Hernández-Borges J.* Dispersive solid-phase extraction / *Analytical Separation Science.* Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2015. P. 1525.
47. *Khezeli T., Daneshfar A.* Development of dispersive micro solid-phase extraction based on micro and nano sorbents // *Trends Anal. Chem.* 2017. V. 89. P. 99.
48. *Islas G., Ibarra I.S., Hernandez P., Miranda J.M., Cepeda A.* Dispersive solid phase extraction for the analysis of veterinary drugs applied to food samples: A review // *Int. J. Anal. Chem.* 2017. Article 8215271.
49. *Rocio-Bautista P., González-Hernández P., Pino V., Pasán J., Afonso A.M.* Metal-organic frameworks as novel sorbents in dispersive-based microextraction approaches // *Trends Anal. Chem.* 2017. V. 90. P. 114.
50. *Ghorbani M., Aghamohammadhassan M., Chamsaz M., Akhlaghi H., Pedramrad T.* Dispersive solid phase microextraction // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 118. P. 793.
51. *Chisvert A., Cárdenas S., Lucena R.* Dispersive micro-solid phase extraction // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 112. P. 226.
52. *Büyüktiryaki S., Keçili R., Hussain C.M.* Functionalized nanomaterials in dispersive solid phase extraction: Advances & Prospects // *Trends Anal. Chem.* 2020. V. 127. Article 115893.
53. *Ghorbani M., Aghamohammadhassan M., Ghorbani H., Zabihi, A.* Trends in sorbent development for dispersive micro-solid phase extraction // *Microchem. J.* 2020. V. 158. Article 105250.
54. *Ścigalski P., Kosobucki P.* Recent materials developed for dispersive solid phase extraction // *Molecules.* 2020. V. 25. Article 4869.
55. *Sajid M., Nazal M.K., Ihsanullah I.* Novel materials for dispersive (micro) solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water samples: A review // *Anal. Chim. Acta.* 2021. V. 1141. P. 246.
56. *Jayasinghe G.D.T.M., Moreda-Piñeiro A.* Molecularly imprinted polymers for dispersive (micro)solid phase extraction: A review // *Separations.* 2021. V. 8. P. 99.
57. *Mohamed A.H., Noorhishamac N.A., Bakar K., Yahaya N., Mohamad S., Kamaruzaman S., Osman H.* Synthesis of imidazolium-based poly(ionic liquids) with diverse substituents and their applications in dispersive solid-phase extraction // *Microchem. J.* 2020. V. 178. Article 107363.

58. *Lin J.-H., Wu Z.-H., Tseng W.-L.* Extraction of environmental pollutants using magnetic nanomaterials // *Anal. Methods*. 2010. V. 2. P. 1874.
59. *Chen L., Wang T., Tong J.* Application of derivatized magnetic materials to the separation and the preconcentration of pollutants in water samples // *Trends Anal. Chem.* 2011. V. 30. P. 1095.
60. *Xie L., Jiang R., Zhu F., Liu H., Ouyang G.* Application of functionalized magnetic nanoparticles in sample preparation // *Anal. Bioanal. Chem.* 2013. V. 406. P. 377.
61. *Huang D., Deng C., Zhang X.* Functionalized magnetic nanomaterials as solid phase extraction adsorbents for organic pollutants in environmental analysis // *Anal. Methods*. 2014. V. 6. P. 7130.
62. *Егунова О.Р., Константинова Т.А., Штыков С.Н.* Магнитные наночастицы магнетита в разделении и концентрировании // *Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология*. 2014. Т. 14. № 4. С. 27.
63. *Wierucka M., Bizjuk M.* Application of magnetic nanoparticles for magnetic solid-phase extraction in preparing biological, environmental and food samples // *Trends Anal. Chem.* 2014. V. 59. P. 50.
64. *Kaur R., Hasan A., Iqbal N., Alam S., Saini M.K., Raza S.K.* Synthesis and surface engineering of magnetic nanoparticles for environmental cleanup and pesticide residue analysis: A review // *J. Sep. Sci.* 2014. V. 37. P. 1805.
65. *Wan Ibrahim W.A., Nodeh H.R., Aboul-Enein H.Y., Sanagi M.M.* Magnetic solid-phase extraction based on modified ferum oxides for enrichment, preconcentration, and isolation of pesticides and selected pollutants // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2015. V. 45. P. 270.
66. *Herrero-Latorre C., Barciela-Garcia J., Garcia-Martin S., Pena-Crecente R.M., Otarola-Jimenez J.* Magnetic solid-phase extraction using carbon nanotubes as sorbents: A review // *Anal. Chim. Acta*. 2015. V. 892. P. 10.
67. *Толмачева В.В., Аняри В.В., Кочук Е.В., Дмитриенко С.Г.* Магнитные сорбенты на основе наночастиц оксидов железа для выделения и концентрирования органических соединений // *Журн. аналит. химии*. 2016. Т. 71. С. 339. (*Tolmacheva V.V., Apyari V.V., Kochuk E.V., Dmitrienko S.G.* Magnetic adsorbents based on iron oxide nanoparticles for the extraction and preconcentration of organic compounds // *J. Anal. Chem.* 2016. V. 71. P. 321.)
68. *Faraji M.* Recent analytical applications of magnetic nanoparticles // *Nanochem. Res.* 2016. V. 1. P. 264.
69. *Speltini A., Sturini M., Maraschi F., Profumo A.* Recent trends in the application of the newest carbonaceous materials for magnetic solid-phase extraction of environmental pollutants // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2016. V. 10. P. 11.
70. *Vasconcelos I., Fernandes C.* Magnetic solid phase extraction for determination of drugs in biological matrices // *Trends Anal. Chem.* 2017. V. 89. P. 41.
71. *Maya F., Cabello C.P., Frizzarin R.M., Estela J.M., Palomino G.T., Cerdà V.* Magnetic solid-phase extraction using metal-organic frameworks (MOFs) and their derived carbons // *Trends Anal. Chem.* 2017. V. 90. P. 142.
72. *Ansari S., Karimi M.* Recent configurations and progressive uses of magnetic molecularly imprinted polymers for drug analysis // *Talanta*. 2017. V. 167. P. 470.
73. *Ansari S.* Application of magnetic molecularly imprinted polymer as a versatile and highly selective tool in food and environmental analysis: recent developments and trends // *Trends Anal. Chem.* 2017. V. 90. P. 89.
74. *Li N., Jiang H.L., Wang X.L., Wang X., Xu G.J., Zhang B.B., Wang L.J., Zhao R.S., Lin J.M.* Recent advances in graphene-based magnetic composites for magnetic solid-phase extraction // *Trends Anal. Chem.* 2018. V. 102. P. 60.
75. *Jiang H.L., Li N., Cui L., Wang X., Zhao R.S.* Recent application of magnetic solid phase extraction for food safety analysis // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 120. Article 115632.
76. *Li W., Shi Y.* Recent advances and applications of carbon nanotubes based composites in magnetic solid-phase extraction // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 118. P. 652.
77. *Capriotti A.L., Cavaliere C., La Barbera G., Montone C.M., Piovesana S., Laganà A.* Recent applications of magnetic solid-phase extraction for sample preparation // *Chromatographia*. 2019. V. 82. P. 1251.
78. *Yu M., Wang L., Hu L., Li Y., Luo D., Mei S.* Recent applications of magnetic composites as extraction adsorbents for determination of environmental pollutants // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 119. Article 115611.
79. *Manousi N., Rosenberg E., Deliyanni E., Zachariadis G.A., Samanidou V.* Magnetic solid-phase extraction of organic compounds based on graphene oxide nanocomposites // *Molecules*. 2020. V. 25. Article 1148.
80. *Di S., Ning T., Yu J., Chen P., Yu H., Wang J., Yang H., Zhu S.* Recent advances and applications of magnetic nanomaterials in environmental sample analysis // *Trends Anal. Chem.* 2020. V. 126. Article 115864.
81. *Li W.K., Shi Y.P.* Recent advances of magnetic extractants in food analysis // *Trends Anal. Chem.* 2020. V. 129. Article 115951.
82. *Socas-Rodriguez B., Herrera-Herrera A.V., Asensio-Ramos M., Rodriguez-Delgado M.A.* Recent applications of magnetic nanoparticles in food analysis // *Processes*. 2020. V. 8. Article 1140.
83. *Wang Q., Gao T., Hao L., Guo Y., Liu W., Guo L., Wang C., Wang Z., Wu Q.* Advances in magnetic porous organic frameworks for analysis and adsorption applications // *Trends Anal. Chem.* 2020. V. 132. Article 116048.
84. *Wu A., Zhao X., Wang J., Tang Z., Zhao T., Niu L., Yu W., Yang C., Fang M., Lv H., Liu S., Wu F.* Application of solid-phase extraction based on magnetic nanoparticle adsorbents for the analysis of selected persistent organic pollutants in environmental water:

- A review of recent advances // *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 2020. V. 51. P. 1.
85. *Faraji M., Shirani M., Rashidi-Nodeh H.* The recent advances in magnetic sorbents and their applications // *Trends Anal. Chem.* 2021. V. 141. Article 116302.
86. *Musarurwa H., Chimuka L., Tavengwa N.T.* Metal organic framework-based magnetic solid phase extraction of pesticides in complex matrices // *Microchem. J.* 2021. V. 171. Article 106907.
87. *Yin S.-J., Zhao J., Yang F.-Q.* Recent applications of magnetic solid phase extraction in sample preparation for phytochemical analysis // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2021. V. 192. Article 113675.
88. *Soylak M., Ozalp O., Uzcan F.* Magnetic nanomaterials for the removal, separation and preconcentration of organic and inorganic pollutants at trace levels and their practical applications: A review // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2021. V. 29. Article e00109.
89. *Majd M., Yazdanpanah M., Bayatloo M.R., Nojavan S.* Recent advances and applications of cyclodextrins in magnetic solid phase extraction // *Talanta.* 2021. V. 229. Article 122296.
90. *Моходоева О.Б., Максимова В.В., Дженлода Р.Х., Шкинев В.М.* Модифицированные ионными жидкостями магнитные наночастицы в анализе объектов окружающей среды // *Журн. аналит. химии.* 2021. Т. 76. С. 483. (*Mokhodoeva O.B., Maksimova V.V., Dzheloda R. Kh., Shkinev V.M.* Magnetic nanoparticles modified by ionic liquids in environmental analysis // *J. Anal. Chem.* 2021. V. 76. № 6. P. 675.)
91. *Cui Y., Ding L., Ding J.* Recent advances of magnetic molecularly imprinted materials: From materials design to complex sample pretreatment // *Trends Anal. Chem.* 2022. V. 147. Article 11651.
92. *Zhang S., Ange K.U., Ali N., Yang Y., Khan A., Ali F., Sajid M., Tian C.T., Bilal M.* Analytical perspective and environmental remediation potentials of magnetic composite nanosorbents — A review // *Chemosphere.* 2022. V. 304. Article 135312.
93. *Chen R., Qiao X., Liu F.* Ionic liquid-based magnetic nanoparticles for magnetic dispersive solid-phase extraction: A review // *Anal. Chim. Acta.* 2022. V. 1201. Article 339632.
94. *Farooq S., Wu H., Nie J., Ahmad S., Muhammad I., Zeeshana M., Khan R., Asim M.* Application, advancement and green aspects of magnetic molecularly imprinted polymers in pesticide residue detection // *Sci. Total Environ.* 2022. V. 804. Article 150293.
95. *Yu X., Zhong T., Zhang Y., Zhao X., Xiao Y., Wang L., Liu X., Zhang X.* Design, preparation, and application of magnetic nanoparticles for food safety analysis: A review of recent advances // *J. Agric. Food Chem.* 2022. V. 70. P. 46.
96. *Wang N., Zhou X., Cui B.* Recent advances and applications of magnetic covalent organic frameworks in food analysis // *J. Chromatogr. A.* 2023. V. 1687. Article 463702.
97. *Золотов Ю.А., Цизин Г.И., Дмитриенко С.Г., Моросанова Е.И.* Сорбционное концентрирование микрокомпонетов из растворов: применение в неорганическом анализе. М.: Наука, 2007. 320 с.
98. *Kim L., Lee D., Cho H.-K., Choi S.-D.* Review of the QuEChERS method for the analysis of organic pollutants: Persistent organic pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons, and pharmaceuticals // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2019. V. 22. Article e00063.
99. *Santana-Mayor Á., Socas-Rodríguez B., Herrera-Herrera A.V., Rodríguez-Delgado M.Á.* Current trends in QuEChERS method. A versatile procedure for food, environmental and biological analysis // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 116. P. 214.
100. *Lehotay S.S.* The QuEChERSER Mega-Method // *LCGC North America.* 2022. V. 40. P. 13.
101. *Albero B., Tadeo J.L., Pérez R.A.* Ultrasound-assisted extraction of organic contaminants // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 118. P. 739.
102. *Lasarte-Aragón G., Lucena R., Cárdenas S.* Effervescence-assisted microextraction—one decade of developments // *Molecules.* 2020. V. 25. Article 6053.
103. *Rocío-Bautista P., Pacheco-Fernández I., Pasán J., Pino V.* Are metal-organic frameworks able to provide a new generation of solid-phase microextraction coatings? — A review // *Anal. Chim. Acta.* 2016. V. 939. P. 26.
104. *Shi W., Li W., Nguyen W., Chen W., Wang J., Chen M.* Advances of metal organic frameworks in analytical applications // *Mater. Today Adv.* 2022. V. 15. Article 100273.
105. *Fontanals N., Marcé R.M., Borrull F., Cormack P.A.G.* Mixed-mode ion-exchange polymeric sorbents: Dual-phase materials that improve selectivity and capacity // *Trends Anal. Chem.* 2010. V. 29. P. 765.
106. *Цюрупа М.П., Блиникова З.К., Проскурина Н.А., Пастухов А.В., Павлова Л.А., Даванков В.А.* Сверхсшитый полистирол — первый нанопористый полимерный материал // *Российские нанотехнологии.* 2009. Т. 4. С. 109.
107. *Дмитриенко С.Г., Тихомирова Т.И., Апяри В.В., Толмачева В.В., Кочук Е.В., Золотов Ю.А.* Применение сверхсшитых полистиролов для концентрирования и разделения органических соединений и ионов элементов // *Журн. аналит. химии.* 2018. Т. 73. С. 830. (*Dmitrienko S.G., Tikhomirova T.I., Apyari V.V., Tolmacheva V.V., Kochuk E.V., Zolotov Yu.A.* Application of hypercrosslinked polystyrenes to the preconcentration and separation of organic compounds and ions of elements: A review. // *J. Anal. Chem.* 2018. V. 73. P. 1053.)
108. *Дмитриенко С.Г., Ирха В.В., Кузнецова А.Ю., Золотов Ю.А.* Использование полимеров с молекулярными отпечатками в процессах разделения и концентрирования органических соединений // *Журн. аналит. химии.* 2004 Т. 59. С. 902. (*Dmitrienko S.G., Irkha V.V., Kuznetsova A. Yu., Zolotov Yu. A.* Use of molecular imprinted polymers for the separation and

- preconcentration of organic compounds // *J. Anal. Chem.* 2004. V. 59. № 9. P. 808.)
109. *V. Soares Maciel E., de Toffoli A.L., Lanças F.M.* Recent trends in sorption based sample preparation and liquid chromatography techniques for food analysis // *Electrophoresis.* 2018. V. 39. P. 1582.
110. *Casado N., Morante-Zarzero S., Pérez-Quintanilla D., Câmara J.S., Sierra I.* Two novel strategies in food sample preparation for the analysis of dietary polyphenols: Micro-extraction techniques and new silica-based sorbent materials // *Trends Food Sci. Technol.* 2018. V. 98. P. 167.
111. *Peng L., Cao J.* Modern microextraction techniques for natural products // *Electrophoresis.* 2021. V. 42. P. 219.
112. *Nasiri M., Ahmadzadeh H., Amiri A.* Sample preparation and extraction methods for pesticides in aquatic environments: A review // *Trends Anal. Chem.* 2020. V. 123. Article 11577210.
113. *Ali N.F.M., Sajid M., Halim W.I.A., Mohamed A.H., Zain N.N.M., Kamaruzaman S, Hanapi N.S.M., Ibrahim W.N.W., Yahaya N.* Recent advances in solid phase extraction methods for the determination of bisphenol A and its analogues in environmental matrices: An updated review // *Microchem. J.* 2022. V. 184. Article 108158.
114. *González-Martín R., Lodoso-Ruiz E., Trujillo-Rodríguez M.J, Pino V.* Magnetic ionic liquids in analytical microextraction: A tutorial review // *J. Chromatogr. A.* 2022. V. 1685. Article 463577.
115. *Aguirre M.A., Canals A.* Magnetic deep eutectic solvents in microextraction techniques // *Trends Anal. Chem.* 2022. V. 146. Article 116500.
116. *Safari M., Yamini Y.* Application of magnetic nanomaterials in magnetic in-tube solid-phase microextraction // *Talanta.* 2020. V. 221. Article 121648.
117. *Ali N., Hassan Riead M.M., Bilal M., Yang Y., Khan A., Ali, F., Iqbal H.M.N.* Adsorptive remediation of environmental pollutants using magnetic hybrid materials as platform adsorbents // *Chemosphere.* 2021. V. 284. Article 131279.
118. *Zhao G., Qin N., Pan A., Wu X., Peng C., Ke F., Iqbal M., Ramachandraiah K., Zhu J.* Magnetic nanoparticles@metal-organic framework composites as sustainable environment adsorbents // *J. Nanomater.* 2019. Article 1454358.
119. *Gao Y., Liu G., Gao M., Huang X., Xu D.* Recent advances and applications of magnetic metal-organic frameworks in adsorption and enrichment removal of food and environmental pollutants // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2020. V. 50. P. 472.
120. *He M., Ou X., Wang Y., Chen Z., Li D., Chen B., Hu B.* Porous organic frameworks-based (micro) extraction // *J. Chromatogr. A.* 2019. V. 1609. Article 460477.
121. *Zhang S., Yang Q., Wang C., Luo X., Kim J., Wang Z., Yamauchi Y.* Porous organic frameworks: Advanced materials in analytical chemistry // *Adv. Sci.* 2018. V. 5. Article 1801116.
122. *Chen L., Wu Q., Gao J., Li H., Dong S., Shi X., Zhao L.* Applications of covalent organic frameworks in analytical chemistry // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 113. P. 182.
123. *González-Sálamo J., Jiménez-Skrzypek G., Ortega-Zamora C., González-Curbelo M. A., Hernández-Borges J.* Covalent organic frameworks in sample preparation // *Molecules.* 2020. V. 25. Article 3288.
124. *Torabi E, Mirzaei M, Bazargan M, Amiri A.* A critical review of covalent organic frameworks-based sorbents in extraction methods // *Anal. Chim. Acta.* 2022. V. 1224. Article 340207.
125. *Wang J., Feng J., Lian Y., Sun X., Wang M., Sun M.* Advances of the functionalized covalent organic frameworks for sample preparation in food field // *Food Chem.* 2023. V. 405. Article 134818.
126. *Fakayode S.O., Lowry M., Fletcher K.A., Huang X., Powe A.M., Warner I.M.* Cyclodextrins host-guest chemistry in analytical and environmental chemistry // *Curr. Anal. Chem.* 2007. V. 3. P. 171.
127. *Gentili A.* Cyclodextrin-based sorbents for solid phase extraction // *J. Chromatogr. A.* 2020. V. 1609. Article 460654.
128. *Trujillo-Rodríguez M. J., Nan H., Varona M., Emaus M., Souza I.D., Anderson J.L.* Advances of ionic liquids in analytical chemistry // *Anal. Chem.* 2019. V. 91. P. 505.
129. *Feng J., Loussala H.M., Han S., Ji X., Li C., Sun M.* Recent advances of ionic liquids in sample preparation // *Trends Anal. Chem.* 2020. V. 125. Article 115833.
130. *Giakisikli G., Anthemidis A.N.* Magnetic materials as sorbents for metal/metalloid preconcentration and/or separation. A review. // *Anal. Chim. Acta.* 2013. V. 789. P. 1.
131. *Hemmati M., Rajabi M., Asghari A.* Magnetic nanoparticle based solid-phase extraction of heavy metal ions: A review on recent advances // *Microchim. Acta.* 2018. V. 185. P. 160.
132. *Sherlala A.I.A., Raman A.A.A., Bello M.M., Asghar A.* A review of the applications of organo-functionalized magnetic graphene oxide nanocomposites for heavy metal adsorption // *Chemosphere.* 2018. V. 193. P. 1004.
133. *Filik H., Avan A.A.* Magnetic nanostructures for preconcentration, speciation and determination of chromium ions: A review // *Talanta.* 2019. V. 203. P. 168.
134. *Kabeer M., Hakami Y., Asif M., Alrefaei T., Sajid M.* Modern solutions in magnetic analytical extractions of metals: A review // *Trends Anal. Chem.* 2020. V. 130. Article 1159872.
135. *Ricardo A.I.C., Abujaber F., Bernardo F.J.G., Martín-Doimeadios R.C.R., Ríos A.* Magnetic solid phase extraction as a valuable tool for elemental speciation analysis // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2020. V. 27. Article e00097.

136. *Öztürk Er. E., Bozyiğit G.D., Büyükpınar Ç., Bakırdere S.* Magnetic nanoparticles based solid phase extraction methods for the determination of trace elements // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2020. V. 52. Article 1797465.
137. *Ricardo A.I.C., Abujaber F., Bernardo F.J.G., Martín-Doimeadios R.C.R., Ríos A.* Magnetic solid phase extraction as a valuable tool for elemental speciation analysis // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2020. V. 27. Article e00097.
138. *Spietelun A., Marcinkowski Ł., de la Guardia M., Namieśnik J.* Recent developments and future trends in solid phase microextraction techniques towards green analytical chemistry // *J. Chromatogr. A.* 2013. V. 1321. P. 1.
139. *Pena-Pereira F., Lavilla I., Bendicho C.* Greening sample preparation: An overview of cutting-edge contributions // *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.* 2021. V. 30. Article 100481.
140. *Nowak P.M., Wietecha-Postuszny R., Pawliszyn J.* White Analytical Chemistry: An approach to reconcile the principles of Green Analytical Chemistry and functionality // *Trends Anal. Chem.* 2021. V. 138. Article 116223.
141. *Hussain C.M., Hussain C.G., Keçili R.* White analytical chemistry approaches for analytical and bioanalytical techniques: Applications and challenges // *Trends Anal. Chem.* 2023. V. 159. Article 116905.
142. *Wang D., Chen X., Feng J., Sun M.* Recent advances of ordered mesoporous silica materials for solid-phase extraction // *J. Chromatogr. A.* 2022. V. 1675. Article 463157.

УДК 543.061

НОВОЕ В МЕТОДОЛОГИИ ХИМИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ

© 2024 г. Б. Л. Мильман^{а,*}, И. К. Журкович^а

^а Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства России
ул. Бехтерева, 1, Санкт-Петербург, 192019, Россия

* E-mail: bormilman@yandex.ru

Поступила в редакцию 10.04.2023 г.

После доработки 28.04.2023 г.

Принята к публикации 03.05.2023 г.

Представлен обзор основных методов, способов, процедур и информационных продуктов, применяемых в последние годы при идентификации химических соединений. Методология, используемая в целевом анализе, во многом осталась без изменения; лишь критерии идентификации подверглись некоторой корректировке. Резко расширился фронт исследований в нецелевом анализе. В этом случае основные проблемы заключаются в выявлении кандидатов на идентификацию. Эти версии проверяются по типичным критериям целевого анализа. Эффективный поиск подходящих кандидатских соединений стал возможен при появлении современных хромато-масс-спектрометров высокого разрешения и прогрессе информатики. Последний включает разработку алгоритмов и программ обработки хроматографических и масс-спектрометрических данных, их сравнения со справочными характеристиками, прогнозирования масс-спектров и параметров удерживания и других величин. Химические базы данных позволяют оценить распространенность химических соединений и соответственно их перспективность как кандидатов на идентификацию.

Ключевые слова: идентификация, критерии идентификации, масс-спектрометрия, хроматография, нецелевой анализ, прогнозирование, базы данных.

DOI: 10.31857/S0044450224020029, EDN: vziygk

Процедура идентификации определяемых соединений представляет собой обязательную часть химического анализа. Основные принципы, правила и критерии химической идентификации сформулированы в первом десятилетии XXI века ([1–3] и ссылки в этих публикациях). При этом методология целевого анализа (ЦА, определение заданных аналитов по соответствующим методам анализа) к настоящему времени изменилась мало, произошли лишь, например, некоторые корректировки критериев идентификации [4].

Гораздо более сложная задача – идентификация заранее неизвестных химических соединений в рамках нецелевого анализа (НЦА) [5]. Возможности решения этой задачи, которая связана с возросшими потребностями в глубоком анализе вещества, значительно выросли в последние 10–15 лет. Это обусловлено, во-первых, широким распространением новых аналитических

приборов (хроматографов и масс-спектрометров высокого и ультравысокого разрешения) и, во-вторых, очень быстрым развитием информатики, которое проявляется в появлении новых алгоритмов, программ, баз данных (БД), сетей. Эти обстоятельства во многих случаях способствуют сравнительно быстрому и надежному поиску кандидатов на идентификацию и сбору доказательств определенной идентичности аналитов.

Методология нецелевого анализа быстро развивается, что, в свою очередь, предполагает необходимость регулярного его рассмотрения и подготовки новых обзоров в этой области. В настоящей статье мы кратко суммировали результаты наиболее важных работ последних лет, связанных с методами и способами химической идентификации, ограничившись низкомолекулярными соединениями и в основном масс-спектрометрией (МС), хроматографией

и хромато-масс-спектрометрией (ХМС). Другую релевантную информацию, относящуюся, прежде всего, к анализу биологических проб, объектов окружающей среды, продуктов питания и природных соединений, можно найти в обзорах процедур современной идентификации [6–12].

ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

Основные способы идентификации, основанные на применении методов (а) МС, в том числе тандемной масс-спектрометрии (МС²) и масс-спектрометрии высокого разрешения (МСВР, МС²ВР), (б) газовой (ГХ) и жидкостной хроматографии (ЖХ), в том числе высокоэффективной (ВЭЖХ) и ультраэффективной (УЭЖХ), а также (в) спектрометрии ионной подвижности (СИП) перечислены в табл. 1. Однозначно правильная идентификация достигается при использовании только первого способа идентификации (совместное определение аналита и стандарта) [1–3]. В качестве аналитических стандартов часто используют обычные реактивы и химикаты (хотя их чистота не всегда регламентирована). Большие потенциальные возможности рассматриваемого способа идентификации поддерживаются огромным рынком продаваемых химических соединений (см. далее). Использование собственно аналитических стандартов (стандартных образцов состава) было бы наиболее надежным вариантом идентификации, но номенклатура стандартов [14] меньше на несколько порядков величины.

В метаболомике [15] и анализе объектов окружающей среды [16] положительные результаты применения способа идентификации № 1 (табл. 1) относят к ее первому уровню. Остальные способы приводят лишь к кандидатам на идентификацию (уровни второй и ниже). При этом более надежные результаты, которые называют “предположительно аннотированными соединениями” (putatively annotated compounds) [15] или “вероятной структурой” (probable structure) [16], дает второй способ идентификации (табл. 1). Близкие условия регистрации экспериментальных и справочных данных предполагают тем не менее возможность правильной идентификации. Поэтому такой подход часто используется, он оправдан практически, но строя его доказательность требует валидации в случае многих аналитов и матриц.

В научной литературе последнего времени, особенно в области метаболомики, вместо термина “идентификация” и наряду с ним очень

часто употребляется термин “аннотация” [9, 15], означающий процедуру приписания аналиту (аналитическому сигналу) предполагаемой формулы/структуры или других характеристик химического соединения и имеющий смысл условной идентификации.

Можно ввести количественные показатели правильности (надежности) идентификации. В случае надежной идентификации (способ № 1) того или иного аналита логично считать, что соответствующая правильность равняется 100%. Остальные способы идентификации дают, как правило, меньшие значения, которые можно оценить, используя те или иные вероятностные модели обсуждаемой процедуры [1–3]. Если оценивать правильность того или иного метода/способа идентификации для серии анализов или группы аналитов, то этот показатель представляет собой долю полученных правильных положительных (ПП) результатов (традиционный показатель качественного анализа [2]).

Ранее предложено понятие точки идентификации (ТИ) – одной характеристики (одного значения измеряемой величины, одного свойства) аналита, используемой для идентификации при сравнении со свойствами известного соединения сравнения [2, 3]. Для надежной целевой идентификации требуется несколько ТИ (совпадение параметров хроматографического удерживания, масс ионов и интенсивностей массовых пиков), некоторые из них (точные массы ионов) обладают большим весом. Концепция ТИ недавно была распространена на НЦА, осуществляемый разными методами ЖХ-МСВР [6, 17]. Точки идентификации суммируются как целочисленные баллы [6]. Введена также дробная шкала оценок совпадения масс-спектров и хроматограмм, в частности, предусмотрено сравнение экспериментальных данных с соответствующими расчётными значениями масс ионов и времен удерживания (ВУ) [17].

ЦЕЛЕВОЙ АНАЛИЗ. НОРМАТИВНЫЕ КРИТЕРИИ ИДЕНТИФИКАЦИИ

Идентификация заранее заданных аналитов проводится по методикам анализа, многие из которых разработаны в соответствии с руководствами международных или национальных регулирующих организаций. Недавно опубликованы актуальные сводки нормативных хроматографических и масс-спектрометрических критериев идентификации [4]. После этого появились

Таблица 1. Способы идентификации

№	Способ	Принцип	Новые возможности
1	Совместный анализ проб и аналитических стандартов (веществ/ соединений сравнения)	Совпадение аналитических сигналов аналита и вещества сравнения* при использовании двух и более независимых методов анализа, прежде всего МС и хроматографии, и варьировании условий анализа	Полное использование возможностей синтеза химических соединений по требованию [13] расширяет рамки применения этого наиболее надежного метода идентификации
2	Сравнение результатов анализа со справочными данными экспериментального происхождения	Данные представляют собой масс-спектры и параметры удерживания, зарегистрированные в сходных, но неидентичных экспериментальных условиях (иное время, иные условия регистрации спектров и хроматограмм, другая лаборатория, другие модели приборов)	Идентификация обеспечивается расширением библиотек масс-спектров, сводок хроматографических параметров удерживания и значений поперечного сечения столкновений (ПСС) в СИП, появлением молекулярных сетей
3	Сравнение с естественными значениями физических постоянных	МСВР: относительные массы молекул и изотопная картина	Широкое распространение МСВР обеспечивает реализацию этого способа идентификации за счет уточнения молекулярных формул кандидатов на идентификацию
4	Сравнение результатов анализа с предсказанными справочными данными	Масс-спектры, параметры удерживания и другие характеристики рассчитывают, прежде всего, с использованием методов машинного обучения, и используют в качестве справочных данных	Методы предсказания совершенствуются, точность предсказания возрастает
5	Интерпретация масс-спектров	Выводы о структуре (субструктурах) аналитов делают, исходя из правил и закономерностей фрагментации и/или при использовании соответствующих компьютерных программ	Способы компьютерной интерпретации масс-спектров, широко развиваются - параллельно с разработкой способов их предсказания по предполагаемой структуре аналита (№ 4)

* Совместный, что более доказательно, или последовательный ввод в прибор аналита и стандарта.

новые руководства Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA, 2020 г. [18]), Евросоюза (ЕС, пестициды, 2021 г. [19]) и Всемирного антидопингового агентства (2023 г. [20]) Последние два документа не содержат существенных изменений критериев в сравнении с предыдущей их редакцией [4].

В обновленных рекомендациях FDA [18], как и ранее в документе ЕС [4], введены универсальные

максимальные отклонения относительных интенсивностей пиков ($\pm 30\%$) от соответствующих значений для масс-спектров сравнения (например, спектров градуировочных стандартов) – независимо от вида масс-спектра (одинарный масс-анализ, МС¹, минимум три иона; МС², два и более фрагментных ионов) и типа скана (регистрация отдельных ионов/переходов или полные сканы). В случае МСВР критерии включают массовое окно (± 5 ppm) для двух ионов. Совпадения

интенсивностей, как и ранее, не требуется, поскольку при идентификации соответствие точных масс имеет гораздо большее значение, чем сходство интенсивностей пиков [21]. Интересно, что из обсуждаемого руководства исчез в явном виде такой распространенный хроматографический критерий, как максимальное отклонение от ВУ известного соединения; предусмотрена, однако, необходимость совпадения пиков аналита на всех масс-хроматограммах одного хроматографического пробега [18].

Указанные нормативные/стандартизованные критерии, проверенные в специальных исследованиях, в основном оказались действенными, но содержали возможности улучшения [22]. Так, определено 169 ветеринарных лекарств, добавленных в яичные продукты, методом УЭЖХ-МС² (с тройным квадрупольным масс-анализатором, QqQ) и прослежено влияние числа регистрируемых пиков фрагментных ионов на показатели ложных (положительных, ЛП, и отрицательных, ЛО) результатов идентификации. При учете двух рекомендованных фрагментов невысокий уровень ЛП (наблюдаемый в случае <10% анализов) обнаружен для 95% анализов, а регистрация трех фрагментов, доступная для современных приборов, обеспечила указанный низкий уровень ЛП уже в случае 99% анализов. Сравнительно высокий уровень ЛО (более 10% анализов) также существенно уменьшался (с 25–45 до 10–12% анализов) при регистрации трех вместо двух переходов [22].

НЕЦЕЛЕВОЙ АНАЛИЗ

Смещение химико-аналитических исследований в сторону НЦА — ярко выраженная тенденция наших дней [5]. Идентификация неизвестных компонентов вещества в рамках его НЦА, даже если эти компоненты обнаружены, представляет собой гораздо более сложную задачу, чем подтверждение или неподтверждение идентичности заранее заданных аналитов в ЦА (см. ранее). В отличие от ЦА, где предусмотрены, как правило, первый или, реже, второй способы идентификации (табл. 1), в рамках НЦА применимы все рассмотренные способы, но их реализация весьма сложна и часто приводит к неоднозначным результатам.

Совместный анализ с аналитическими стандартами (способ № 1, табл. 1) возможен, но малопродуктивен, если о природе аналита известно мало и сложно выбрать вещества сравнения. Справочные данные (№ 2) могут отсутствовать

или относиться к непохожим экспериментальным условиям. Решению задач НЦА способствует широкое применение МСВР (способ № 3), но при увеличении молекулярной массы аналита выбор его единственной молекулярной формулы, и тем более структуры, становится непростым. Еще одно направление прогресса НЦА связано с быстрым развитием алгоритмов предсказания масс-спектров и других характеристик (способ № 4) и предсказания структур по таким данным (способ № 5). Результаты работы соответствующих программ восполняют отсутствие справочных данных экспериментального происхождения и устраняют трудности “ручной” интерпретации спектров.

Способы идентификации при НЦА показаны на рис. 1 и более подробно рассмотрены ниже, начиная с понятия химического пространства, которое представляет собой множество (подмножества) химических соединений как потенциальных результатов НЦА. Отсутствующие в статье детали и трактовки можно найти в публикациях [6, 9, 11, 24–27].

Химическое пространство. В общем случае неизвестным компонентом анализируемых проб с переменной вероятностью может оказаться практически любое известное (неизвестное известное, unknown known) или даже неизвестное (unknown unknown) соединение. Допускается существование огромного количества (10^{11} и много больше, табл. 2) индивидуальных соединений, пути синтеза которых в принципе известны. Гораздо более определенной является информация о соединениях, которые могут быть синтезированы по требованию. Если их объединить с реактивами и химикатами, поставляемыми со склада, то общее количество доступных соединений как будто бы приближается к 1 млрд (табл. 2), что, однако, трудно проверить.

Реальное химическое пространство, по-видимому, ограничено ~200 млн индивидуальных соединений и их несложных смесей (веществ, substances) (табл. 2). Среди них имеется очень много редких соединений, вряд ли присутствующих в распространенных объектах анализа: биопробах человека и животных, продуктах питания, растительных материалах, объектах окружающей среды. Различные подмножества/подпространства наиболее распространенных соединений (их до ~1–2 млн) включены в специализированные БД, которые также указаны в табл. 2. При прочих равных условиях следует ориентироваться на присутствие в анализируемых объектах

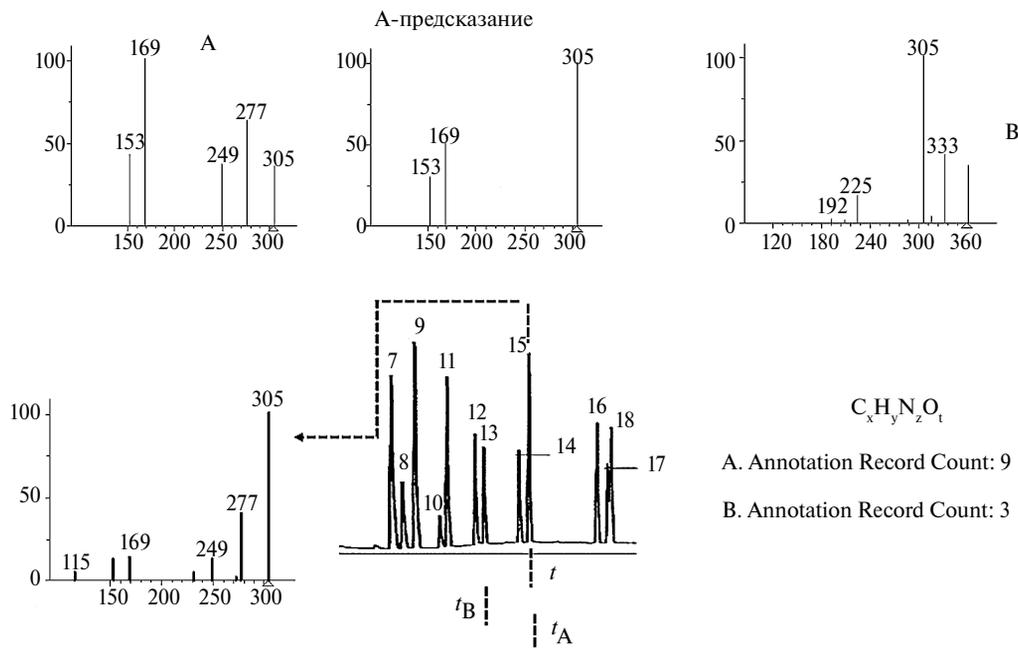


Рис. 1. Идентификация условного соединения А в рамках нецелевого анализа. Наблюдается удовлетворительное совпадение тандемного масс-спектра (левый нижний угол), соответствующего пику 15 на хроматограмме, со справочными спектрами соединения А (верхний ряд), в том числе с *in silico* спектром. Отличие от второго кандидатского соединения (В, правый верхний угол) гораздо более существенное. Время удерживания t также гораздо ближе к справочному значению для соединения А (t_A). С использованием масс-спектрометрии высокого разрешения установлена брутто-формула неизвестного аналита $C_xH_yN_zO_t$, причем для аналита А обнаружено гораздо больше информации, чем для соединения В; приведен показатель Annotation Record Count – размер информационной справки – в базе данных PubChem [23] (см. далее).

распространенных/популярных и достаточно хорошо изученных соединений, таких как основные компоненты биологических образцов (метаболиты), химическая продукция и часто используемые реактивы, продукты их превращений в окружающей среде и т.п. Таким образом, среди аналитов преобладают или могут преобладать те соединения, которые ранее уже были обнаружены в рассматриваемых объектах анализа. Математический эквивалент этого утверждения – статистика Байеса, которая используется в простых тестах [2, 3], но применима также к современным методам идентификации [38].

Показатели популярности/распространенности представляют собой, по существу, относительный объем априорной информации (метаинформации) о данном соединении и частоту ссылок на него и поэтому весьма эффективно оцениваются по существующим химическим БД (табл. 3). Итак, если две версии аналита, имеющие похожие масс-спектры и другие характеристики, значительно различаются по информационным показателям, то более популярное

соединение следует считать основным кандидатом на идентификацию и соответствующую гипотезу необходимо проверять в первую очередь. То или иное ненулевое значение такого показателя логично рассматривать как пороговое при рассмотрении возможности присутствия соединения в анализируемой пробе; такие же выводы можно делать на основании простого присутствия или отсутствия в специализированной БД.

Показатели популярности химических соединений рассматриваются в дополнение к результатам химического анализа. Факт распространенности того или иного подходящего аналита сам по себе нельзя рассматривать как строгое доказательство его присутствия в пробе, но он очень важен для поддержки или отклонения идентификационной гипотезы и первоочередного отбора аналитических стандартов при получении исчерпывающих доказательств определенной идентичности.

Табл. 3 показывает, что для рассматриваемых оценок популярности чаще других используют большие БД ChemSpider и PubChem, к которым

Таблица 2. Химическое пространство и подпространства*

Соединения	Комментарии, источники информации	Количество соединений
Виртуальное пространство		
Потенциальные, молекулярная масса ≤ 500 Да	Возможен синтез, оценка см. [28]	$10^{11} - 10^{200}$
Виртуальное пространство и известные соединения		
Продаваемые и синтезируемые по требованию	Каталоги и реклама, собранные в БД ZINC 20 [13]:	
	– соединения, готовые к продаже; – синтез по требованию	230 000 000 750 000 000
Известные соединения		
Отраженные в научной литературе	Зарегистрированы в системе Chemical Abstracts Service (CAS) [29]	$\leq 204\,000\,000$
Важные, входящие в другие БД**	БД ChemSpider [30]	115 000 000
Биологически важные	БД PubChem [23]	114 000 000
Наиболее распространенные соединения		
Регулируемые, загрязнители окружающей среды, токсиканты	БД CompTox Chemistry Dashboard [31].	1 200 059
	БД CHEMLIST [29].	>417 000
	БД NORMAN-SLE [32]	115 248
Метаболиты	БД METLIN (данные 2017 г. [28]). БД HMDB [33]	961 829 220 945
Природные соединения	Разные БД [34]	>320 000
В продуктах питания	БД FooDB [35]	70 926

* Информацию о других химических/биохимических БД см. [27, 36, 37].

** Наша характеристика.

обеспечен свободный доступ, что особенно значимо практически. Тем не менее их сложно отнести к курируемым БД, они создаются путем компьютерной компиляции данных из других электронных массивов информации и могут быть неполными, содержать неточности [50]. Вызывает сожаление, что наиболее полная курируемая БД Chemical Abstracts, содержащая выверенную химическую информацию и не имевшая конкурентов в эпоху бумажной информатики, в настоящее время доступна только по коммерческим онлайн-каналам.

Присутствие того или иного соединения в специализированной БД (нижняя часть табл. 2) означает возможность его обнаружения в образцах/матрицах соответствующего вида. В случае ненулевой информации о возможном составе матрицы НЦА приобретает статус

“определения ожидаемых/подозреваемых соединений” (ООС) [5]. Поэтому составление сводок подозреваемых аналитов [32, 56], имеющих те или иные шансы на обнаружение и идентификацию, существенно облегчает работу аналитиков.

Библиотеки масс-спектров. Использование компьютерных библиотек масс-спектров – один из первых подходов к автоматической идентификации и до сих пор наиболее распространенный ее способ [2, 3, 57, 58]. Идентификация особенно эффективна в случае летучих аналитов и масс-спектров ионизации электронами (ИЭ-МС¹), достигая правильности ~80%. Две самые большие библиотеки: NIST 20 (350 643 спектра 306 869 соединений) и Wiley Registry 12th (соответственно 817 290 и 668 435) [5]. Эти массивы информации также включают справочные индексы удерживания (ИУ, ГХ-ИУ). Многие вопросы

создания и использования таких библиотек решены, но отдельные проблемы остаются [59–61].

История библиотек тандемных масс-спектров (спектров MS^2) гораздо короче, и они далеко не полны [57, 58]. Считается, что с их использованием возможна идентификация не более нескольких процентов метаболитов и других низкомолекулярных соединений [62, 63]. Далее, вид спектров MS^2 варьируется в широких пределах; наблюдается зависимость от типа приборов (QqQ; квадрупольно-времяпролетный масс-анализатор, Q-TOF; орбитальная ловушка, Orbitrap), энергии столкновений и некоторых других факторов [3, 62, 64]. Это существенно влияет на показатель ПП при поисках в рассматриваемых библиотеках. Таким образом, наряду с расширением этих библиотек необходимы стандартизация условий их создания и повышение качества спектральных данных [58, 62]. Это тем более важно, поскольку спектральные библиотеки служат основой для отбора тренировочных массивов спектров в процедурах их предсказания (спектры *in silico*, см. далее).

Наиболее крупные библиотеки спектров MS^2 перечислены в табл. 4; сведения о других их коллекциях можно найти в работах [57, 58]. Библиотеки удобно разделить на коммерческие и свободного доступа, причем последние могут быть открыты для пополнения пользователями и аннотирования их спектров (депозитарии, такие как GNPS, см. табл. 4). При специализации аналитических лабораторий удобно пользоваться библиотеками (домашними или межлабораторными), ориентированными на определенные классы и группы соединений [58, 68–70]. Некоторые библиотеки тандемных масс-спектров содержат справочную информацию о ВУ и сечениях столкновений (см. далее) [58, 71].

В литературе отмечено несколько путей видоизменения библиотек, которые приводят к улучшению идентификации. Так, предложено расширение библиотек за счет спектров, соответствующих новым энергиям столкновений; такие данные получают интерполяцией существующих спектров, приписанных другим значениям энергии [72]. Перспективно также использование фрагментов всех ионов – предшественников данного анализа [71].

Модернизация библиотечных поисков. Сравнение экспериментальных масс-спектров со справочными спектрами приводит к ранжированию последних в зависимости от значений

показателя их сходства. Наиболее похожие справочные спектры (компьютерные ответы 1-го ранга) соответствуют главным кандидатам на идентификацию. Именно кандидаты 1-го ранга чаще всего учитываются в статистике правильных результатов (как % ПП).

В качестве меры сходства традиционно используют функцию косинуса (точечную функцию) [2, 3], не исключающую, однако, появление ложных кандидатов на идентификацию. Один из способов повышения эффективности библиотечных поисков и расширения их возможности – использование усовершенствованных мер сходства экспериментальных и справочных масс-спектров. Это особенно важно для тандемных масс-спектров с их недостаточной воспроизводимостью, присутствием фоновых пиков, множественной природой ионов-предшественников, пропуском некоторых фрагментных ионов, а также их ограниченным количеством. Многие меры сходства, удачно дополняющие/заменяющие функцию косинуса, рассмотрены в публикациях [12, 73].

В новых работах обращают внимание не только на сходство масс ионов, но и на соответствие разностей масс (нейтральных потерь), что позволяет, например, осуществлять поиск структурно сходных соединений [12]. Соответствующий показатель сходства – модифицированная функция косинуса, где дополнительно учитываются разности масс предшественников и фрагментов в сопоставляемых спектрах [74]. Еще один новый перспективный подход состоит в использовании спектральной энтропии в мерах сходства тандемных масс-спектров [75]. Предложено также учитывать вариативность масс-спектров высокого разрешения при их сравнении [76].

Перечисляя различные инновации, отметим также, что использование глубоких нейронных сетей позволяет улучшить результаты традиционных поисков в библиотеках спектров ИЭ- MS^1 [77] и полезно для сравнения тандемных масс-спектров [78].

Молекулярные сети [79, 80]. Ими называют графы подмножества химических соединений, связанных между собой, чаще всего по степени сходства спектров MS^2 (рис. 2). В узлах графа – массы ионов (ионов-предшественников) различных соединений, причем каждому из них может соответствовать один или несколько похожих спектров. Ребра графа соединяют в итоге пары структурно сходных соединений, масс-спектры

Таблица 3. Показатели популярности/распространенности химических соединений и их возможного присутствия в анализируемых пробах

Год	Показатель, комментарии	Литература
2000	Количество рефератов (справок, ссылок) в журнале Chemical Abstracts*	[39, 40]
2011	Количество рефератов (справок, ссылок) в БД Chemical Abstracts	[43]
2012	Количество ссылок на соединение в БД ChemSpider	[44]
2014	БД PubChem, пороговое значение показателя refscore (>5) – числа веществ (substances), в состав которых входит данное химическое соединение	[45]
2016	Присутствие в объектах анализа по данным предшествующих отчетов	[46]
2016	Количество ссылок, в том числе патентов, и источников информации в БД ChemSpider и PubChem	[47]
2017	Присутствие соединения в БД по метаболомике и загрязнителям окружающей среды	[48]
2020	Количество источников данных в БД CompTox Chemistry Dashboard (см.табл. 2)	[49]
2020 – 2021	Количество источников данных и фирм – производителей химикатов в БД ChemSpider и PubChem, размер справок о соединении и число патентов в БД PubChem	[50–52]
2021	Различные показатели БД PubChemLite – версии PubChem, предназначенной для решения задач экспосомики [54] и объединения с предсказателем масс-спектров MetFrag	[53]
2023	Количество определенных лексических единиц в описании соединения в БД PubChem	[55]

* Значительное количество совместных справок (цитирований) в журнале/БД Chemical Abstracts, относящихся к (а) паре соединений или (б) соединению и матрице (веществу), может указывать соответственно на вероятное совместное присутствие двух и более соединений в данной пробе или присутствие соединения в данной матрице (веществе) [40–42].

которых весьма близки. Молекулярная сеть существует совместно с библиотекой масс-спектров, по которой можно идентифицировать “неизвестные известные” аналиты. Если узел, встраиваемый в сеть, относится к такому новому для информационной системы соединению, то оно может быть идентифицировано также по разности масс ионов этого аналита и связанного с ним известного соединения с учетом структуры последнего.

Наиболее известна молекулярная сеть в области природных соединений (GNPS, табл. 4), которая представляет собой часть глобальной информационной системы, включающей библиотеки масс-спектров, депозитарий для них, различные программные инструменты для обработки данных и взаимодействия с пользователями системы и др. Методология сетей сочетается с возможностями групповой идентификации и использованием предсказанных масс-спектров [81, 82], применима к ИЭ-МС¹ [83]. Способы

построения сетей и варианты их наполнения совершенствуются [12, 84–87].

Предсказание масс-спектров [10, 12, 63, 88]. Компьютерные методы предсказания масс-спектров (спектров *in silico*) позволяют получать данные, заменяющие справочные масс-спектры экспериментального происхождения, что особенно важно для МС². Различные алгоритмы предсказания, как правило, основаны на машинном обучении с использованием тренировочного набора известных масс-спектров и/или на правилах фрагментации (эвристическая информация). Наиболее известны программы CFM-ID, MetFrag и MS-FINDER. Легче прогнозировать тандемные масс-спектры соединений регулярного строения, например липидов, чьи ионы подвергаются распаду по одним и тем же правилам. Новые способы предсказания и соответствующие компьютерные программы появляются постоянно (см., например, [36, 89–91]), некоторые из них позволяют

Таблица 4. Основные библиотеки тандемных масс-спектров низкомолекулярных соединений [5]

Название	Количество		Комментарии	Литература
	спектры	соединения		
NIST 20, MC ² *	1 320 389	31 000		
METLIN		~600 000	Метаболиты	[65]
MassBank of North America (MONA)	691548	226303	Преобладают биологически активные соединения, присутствуют <i>in silico</i> масс-спектры	
mzCloud	10 326 515	20 820	MC ⁿ , лекарственные соединения, метаболиты	[66]
The Global Natural Product Social Molecular Networking (GNPS)	586 647 [58]	> 20 000 (оценка)	Природные соединения.	
MassBank	90 471	16 881	MC ¹ , MC ⁿ	[67]
Human Metabolome Database (HMDB):			Метаболиты	[33]
– эксперимент;	64 923	4 064		
– предсказание (<i>in silico</i>)	1 787 163	206 809		

* Включая масс-спектры высокого разрешения 27 840 соединений.

оценивать степень правильности условной идентификации (аннотации) [92]

Масс-спектры *in silico* в роли справочных спектров сравнения – сами по себе далеко не панацея, и результат соответствующих библиотечных поисков зависит от многих факторов [93]. Доля правильных ответов 1-го ранга, полученных в большинстве значимых примеров, может достигать ~50–70% и иногда выше этого уровня [48, 63, 94, 95]. Более высокие показатели наблюдаются при сочетании с другими способами идентификации и включении априорной информации, например показателей распространенности соединений (см. ранее).

Исследуется возможность предсказания масс-спектров, в том числе тандемных, с использованием квантово-химических расчетов [96, 97].

Структурная интерпретация масс-спектров [10, 12, 63, 88]. Соответствующие программы на основе машинного обучения решают задачу, обратную предсказанию масс-спектров: выводят варианты структурных фрагментов и кандидатских структур в целом, исходя из масс-спектра неизвестного анализата. Так, широко известен программный инструмент CSI:FingerID, который, в частности, был интегрирован в программу

SIRIUS. Последняя, исходя из масс ионов-предшественников, изотопной картины и спектров MC², выбирает наиболее вероятные кандидатские соединения из тех, которые включены в химические БД [98]. Позднее для этих же целей была создана программа MAD HATTER, обеспечивающая более 70% правильных идентификаций в модельной выборке тандемных спектров [55]. Разрабатываются и другие новые программы автоматического извлечения структурных данных из масс-спектров [36, 99, 100]. В целом отмечается высокая значимость алгоритмов глубокого машинного обучения, применяемого для решения рассматриваемой задачи [11, 101]. Возможности “ручной” интерпретации тандемных масс-спектров, однако, далеко не исчерпаны [102, 103].

Параметры удерживания в хроматографии. Совместное применение масс-спектрометрии и хроматографии – требование нормативных документов ЦА и условие надежной идентификации в условиях НЦА.

В ГХ давно и успешно используют справочные ИУ экспериментального происхождения, которые сейчас в значительном объеме представлены в БД NIST (139693 соединений [5]) и других сводках данных [2, 3, 104]. Большинство

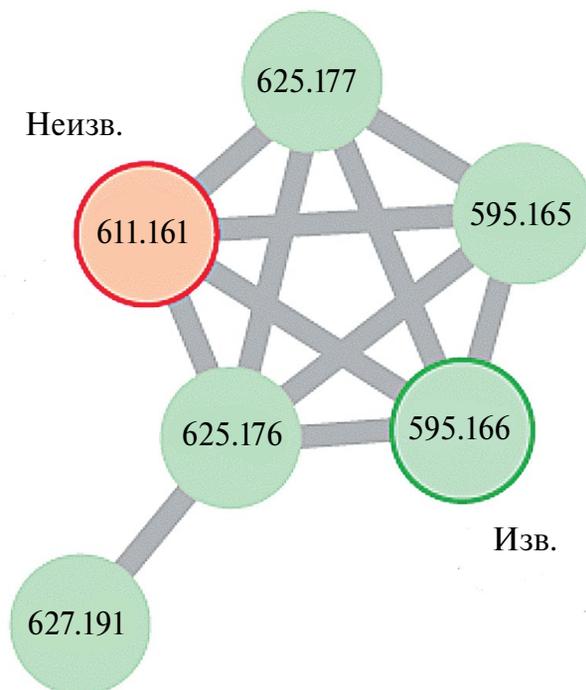


Рис. 2. Участок молекулярной сети (адаптирован из работы [80]). Числами указаны массы (Да) ионов – предшественников каждого из соединений. Разность масс 611.161 и 595.166 соответствует атому кислорода, что, с учетом сходства масс-спектров, позволяет считать неизвестный анализ (Неизв.) продуктом окисления известного соединения (Изв.).

практически значимых летучих соединений, по-видимому, охвачены этими данными. Тем не менее появляются новые соединения, подходящие для определения методом ГХ, например летучие производные малолетучих соединений, поэтому требуется информация об их справочных ИУ. Соответствующие оценки выполняются различными вариантами машинного обучения и некоторыми другими методами [104–106].

Концепция ИУ для В/УЭЖХ менее значима, здесь значительно чаще оперируют величиной ВУ. Начинают появляться достаточно большие коллекции экспериментальных ВУ, например для 80 тыс. соединений в информационной системе METLIN [107]; эти характеристики установлены в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Массивы экспериментальных данных служат тренировочными выборками для предсказания ВУ методами машинного обучения (обзоры [6, 10, 108]). В качестве структурных переменных, коррелируемых с ВУ (количественная связь структура–удерживание), используют молекулярные дескрипторы. Обращенно-фазовые и колонки НІІС рассматривают отдельно [108, 109]. Различные ошибки современного предсказания ВУ в основном находятся в диапазоне от 10 с до 1 мин [10, 108–112]. Подобная точность

предсказаний, по-видимому, недостаточна, чтобы отразить тонкие различия в структуре аналита, но вполне подходит для отклонения многих кандидатов на идентификацию. Так, 68% кандидатских соединений, предсказанных по масс-спектрам компонентов плазмы крови, не соответствовали оценкам характеристик удерживания: оказались вне интервала ($V_U \pm 1$ мин) [109]. Отметим, что вследствие сравнительно невысокой воспроизводимости ВУ и их сильной зависимости от экспериментальных условий, важен пересчет справочных наборов ВУ при их адаптации к текущему эксперименту [10, 113].

Спектрометрия ионной подвижности [114]. Этот метод представляет собой разделение ионов по их подвижности (ИП) в газовой фазе и сочетается с МС и ВЭЖХ-МС. Приборы СИП-МС и ВЭЖХ-СИП-МС с различными техническими (физическими) вариантами реализации ИП выпускаются основными производителями масс-спектрометрических приборов.

Стадия ИП повышает степень разделения аналитов, что особенно наглядно проявляется для смесей изомеров или изобарных соединений. Разделение зависит от ПСС, которое представляет собой индивидуальную характеристику химических соединений и подходит для их

идентификации. Значения этой величины, как экспериментального происхождения, так и рассчитанные, табулированы в нескольких БД [12, 112, 114, 115] и могут быть использованы как справочные данные совместно с масс-спектрометрической и хроматографической информацией [6, 12].

Совмещение методов идентификации необходимо для повышения ее надежности. Совместное применение MS^1BP , MS^2 , У/ВЭЖХ и СИП названо “четырёхмерным” подходом к идентификации [12]. При высоком качестве (точности) всех экспериментальных и справочных данных критерию распознавания аналита – незначительной разности соответствующих масс ионов-предшественников, значений ВУ и ПСС и больших показателей сходства спектров MS^2 – должно удовлетворять только одно кандидатское соединение. В реальности различные справочные данные могут приводить к противоречивым и неоднозначным результатам. Для выбора наилучшей версии и дальнейшей ее проверки можно оценивать степень совпадения данных по подсчету точек идентификации в их численном выражении [6, 17].

Пакеты программ (fusion tools). Аналитику удобно, если различные программы, необходимые для идентификации нецелевых аналитов, интегрированы в единое программное обеспечение (на компьютере прибора или доступном сайте). Это позволяет совмещать поиски в библиотеках масс-спектров, электронных коллекциях ИУ, ВУ и ПСС и химических БД с оценками указанных характеристик в экономном режиме. В обзоре [10] упомянуто восемь таких пакетов, компоненты которых частично рассмотрены ранее. В случае анализа сложных образцов критически важное значение имеют программы обработки первичных данных ХМС и выделения соответствующих аналитических сигналов [116]. В целом в литературе описаны сотни программных продуктов, предназначенных для различного преобразования данных ХМС и идентификации аналитов по масс-спектрам и хроматографическим параметрам; создают специальные программы для ориентации в этой области [117].

Сличения. Традиционная практика аналитической химии, в том числе химической идентификации [2, 3], включает сравнительные/сличительные эксперименты, оценивающие профессиональный уровень и качество работы лабораторий, эффективность различных методов и подходов к анализу, пригодность аналитических стандартов и др. Важные меж- и внутрилабораторные

сличения последних лет, касающиеся идентификации компонентов предоставленных образцов как проб неизвестного состава или только анализа данных, отражены в табл. 5. Основным выводом из результатов этих работ заключается в далеко не полной воспроизводимости итогов работы различных лабораторий (№ 1, 8) и умозаключений, сделанных с использованием разных вариантов ЖХ-МС и разных режимов сбора данных в одной лаборатории (№ 7, а также [123]), итогов применения разных компьютерных программ (№ 2, 4) и разных мер сходства масс-спектров (№ 10). При этом возможности идентификации оказались весьма удовлетворительными (№ 6, 9), они возрастают в случае дополнительной информации об ожидаемом составе проб и распространенности аналитов (№ 1, 3, 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: СМЕНА ПАРАДИГМЫ И СМЕНА ПОКОЛЕНИЙ

Суммируя изложенное ранее, можно утверждать, что основная тенденция исследований последних лет представляет собой развитие методологии поисков кандидатов на идентификацию (условно идентифицированных или аннотированных соединений в итоге) в рамках НЦА. Если требуется окончательная идентификация по типичным критериям ЦА, то, располагая перечнем кандидатских соединений, целесообразно (а) ввести в оборот аналитические стандарты или, что менее надежно и требует валидации, (б) регистрировать масс-спектры и хроматограммы (а также спектры ИП) в условиях, максимально близких к тем, в которых определены наиболее качественные/точные справочные данные. Тематический переход от разработки принципов, правил, критериев идентификации к методологии поиска кандидатских соединений представляет, на наш взгляд, смену *парадигмы* в целях и содержании химико-аналитических исследований.

Такого рода изменения проявляются, во-первых, в появлении и широкой эксплуатации новых аналитических приборов (хромато-масс-спектрометров высокого разрешения и др.) и, во-вторых, в резком усилении роли информатики. Последнее представляет собой появление многочисленных программ автоматического поиска кандидатов на идентификацию на основе машинного обучения, расширения библиотек масс-спектров, электронных коллекций других справочных характеристик и химических баз данных. Этот тренд отражает привлечение к работе нового поколения

Таблица 5. Примеры сравнительных исследований в области идентификации

№	Год	Объекты анализа или данные, метод	Содержание проекта	Число лабораторий	Результаты, комментарии	Литература
1	2015	Экстракты речной воды	Сравнение различных методов ХМС и разных подходов к анализу	19	Акцент на НЦА, ООС и МСВР. Выявлена необходимость интегральных пакетов программ, полных библиотек масс-спектров, многих аналитических стандартов и актуальность обмена данными	[118]
2	2012-2017, CASMI*	Масс-спектры набора соединений как неизвестных аналитов	Использование различных программ предсказания масс-спектров, их интерпретации, библиотек масс-спектров и других данных	≤8 (наша оценка)	36–88% ПП – результаты ежегодных победителей [49]	[119]
3	2017	Масс-спектры, представленные в CASMI*	Предсказание масс-спектров и других данных	1	22–25% ПП для наилучших предсказанных соединений, 73–78% при их наличии в химической БД, 87–93% при добавлении поисков в библиотеках масс-спектров	[48]
4	2019	Данные ХМС	Сравнение заданных сигналов (значений m/z при определенных ВУ) в четырех программах обработки данных	≤5 (наша оценка)	Лишь 10% сигналов определены для всех программ. Идентификация 22 тест-соединений: 64–88% ПП	[116]
5	2020	Масс-спектры, представленные в CASMI*	Использование программы предсказания спектров CFM-ID с учетом дополнительной информации	1	Правильный результат в числе пяти наилучших предсказаний: 36–81% соединений (CFM-ID) и 53–96% (CFM-ID + оценка числа источников информации, см. табл. 3)	[49]
6	2020	Множественные спектры MS ² VP 15 соединений	Сравнение спектров каждой лаборатории со справочными данными и другие сравнения	7	78–96% ПП	[62]
7	2020	Образцы плазмы крови человека, УЭЖХ-СИП-MS ² VP	Сравнение идентификации метаболитов в различных вариантах метода анализа и сбора данных	1	Наилучшие результаты: режим фрагментации всех ионов-предшественников (all ion fragmentation) при росте энергии столкновения (ramped) в ходе распада ионов	[120]

Таблица 5. Окончание

					вместо фиксированных ее значений	
8	2021	Экстракты чая, УЭЖХ-МС ² VP	Воспроизводимость сигналов ХМС (МС ¹) в интервалах $\Delta m/z$: ± 5 ppm и ΔVY : ± 3 с или ± 6 с; сравнение Orbitrap и Q-TOF	2	Совпадение <30% сигналов, причины – различия ионов-предшественников, степени фрагментации и др.	[121]
9	2021	51 пестицид в овощах и фруктах, массовая доля 5–50 мкг/кг, УЭЖХ–МС ² VP	Возможности методологии НЦА в целевом определении пестицидов	25	ЛП и ЛО < 5%. 88% лабораторий идентифицировали все из ≤ 7 пестицидов, добавленных в каждый из образцов	[122]
10	2022	10 млн пар спектров МС ²	Сравнение трех показателей сходства: функции косинуса, модифицированной функции косинуса и нейтральных потерь	1	Функция модифицированного косинуса превосходит два других показателя в корреляциях со структурой соединений	[74]

* Проект CASMI (Critical Assessment of Small Molecule Identification – критическая оценка идентификации малых молекул). Исходные файлы использовались затем в других исследованиях возможности компьютерных программ (№ 3, 5).

специалистов в области информатики. Итак, смена поколений приборов и специалистов и смена парадигмы взаимозависимы и являются ответом на широкие потребности в подробном анализе вещества.

Смена эпох не обходится без проблем. В частности, отдельные издания, прежде всего реферативный журнал Chemical Abstracts, содержащий выверенную информацию о большинстве известных химических соединений, при переходе в электронную форму не обрели открытого доступа, что можно рассматривать как потерю в сфере информатики. Далее, многие опытные химики последних поколений непосредственно работали с веществом и могут многое сказать о содержании пробы по цвету, запаху, форме кристаллов, растворимости, прозрачности, простейшим тестам и т.п. Полученные результаты весьма важны при анализе неизвестных объектов сложного состава. Идентификация индивидуальных соединений методами ХМС – еще одна составляющая таких работ. Как показано ранее, важная роль в них принадлежит специалистам

с хорошей подготовкой в области информатики. Наилучшие результаты достигаются, по нашему мнению, когда их деятельность сочетается с работой классических химиков.

Работа выполнена в соответствии с тематическим планом прикладных и научных исследований и разработок в сфере здравоохранения по государственному заданию ФМБА России (код: 64.001.23.800).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Milman B.L.* Identification of chemical compounds // Trends Anal. Chem. 2005. V. 24. № 6. P. 493. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.03.013>
2. *Мильман Б.Л.* Введение в химическую идентификацию. СПб: ВВМ, 2008. 180 с. (*Milman B.L.* Introduction to chemical identification. Saint Petersburg: VVM, 2008. 180 p.)
3. *Milman B.L.* Chemical identification and its quality assurance. Berlin: Springer, 2011. 281 p.
4. *Мильман Б.Л., Журкович И.К.* Обобщенные критерии идентификации химических соединений

- методами хроматографии–масс-спектрометрии // Аналитика и контроль. 2020. Т. 24. № 3. С. 164. <https://doi.org/10.15826/analitika.2020.24.3.003>
5. Мильман Б.Л., Журкович И.К. Современная практика нецелевого химического анализа // Журн. аналит. химии. 2022. Т. 77. № 5. С. 412. <https://doi.org/10.31857/S0044450222050085> (Milman B.L., Zhurkovich I.K. Present-day practice of non-target chemical analysis // J. Anal. Chem. 2022. V. 77. № 5. P. 537. <https://doi.org/10.1134/S1061934822050070>)
 6. Monge M.E., Dodds J.N., Baker E.S., Edison A.S., Fernández F.M. Challenges in identifying the dark molecules of life // Annu. Rev. Anal. Chem. 2019. V. 12. P. 177. <https://doi.org/10.1146/annurev-anchem-061318-114959>
 7. Molyneux R.J., Beck J.J., Colegate S.M., Edgar J.A., Gaffield W., Gilbert J., Hofmann T., McConnell L.L., Schieberle P. Guidelines for unequivocal structural identification of compounds with biological activity of significance in food chemistry (IUPAC Technical Report) // Pure Appl. Chem. 2019. V. 91. № 8. P. 1417. <https://doi.org/10.1515/pac-2017-1204>
 8. Nash W.J., Dunn W.B. From mass to metabolite in human untargeted metabolomics: Recent advances in annotation of metabolites applying liquid chromatography-mass spectrometry data // Trends Anal. Chem. 2019. V. 120. Article 115324. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.11.022>
 9. Place B.J., Ulrich E.M., Challis J.K., Chao A., Du B., Favela K., Feng Y.L., Fisher C.M., Gardinali P., Hood A., Knolhoff A.M., McEachran A.D., Nason S.L., Newton S.R., Ng B., Nuñez J., Peter K.T., Phillips A.L., Quinete N., Renslow R., Sobus J.R., Sussman E.M., Warth B., Wickramasekara S., Williams A.J. An introduction to the benchmarking and publications for non-targeted analysis working group // Anal. Chem. 2021. V. 93. № 49. P. 16289. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c02660>
 10. Tian Z., Liu F., Li D., Fernie A.R., Chen W. Strategies for structure elucidation of small molecules based on LC–MS/MS data from complex biological samples // Comput. Struct. Biotechnol. J. 2022. V. 20. P. 5085. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.09.004>
 11. De Jonge N.F., Mildau K., Meijer D., Louwen J.J., Bueschl C., Huber F., Van der Hoof J.J. Good practices and recommendations for using and benchmarking computational metabolomics metabolite annotation tools // Metabolomics. 2022. V. 18. № 12. P. 103. <https://doi.org/10.1007/s11306-022-01963-y>
 12. Cai Y., Zhou Z., Zhu Z.J. Advanced analytical and informatic strategies for metabolite annotation in untargeted metabolomics // Trends Anal. Chem. 2023. V. 158. Article 116903. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116903>
 13. ZINC20. <https://zinc20.docking.org> (18.03.2023).
 14. Reference Materials. <https://www.sigmaaldrich.com/RU/en/products/analytical-chemistry/reference-materials> (18.03.2023).
 15. Sumner L.W., Amberg A., Barrett D., Beale M.H., Berger R., Daykin C.A., Fan T.W.M., Fiehn O., Goodacre R., Griffin J.L., Hankemeier T., Hardy N., Harnly J., Higashi R., Kopka J., Lane A.N., Lindon J.C., Marriott P., Nicholls A.W., Reilly M.D., Thaden J.J., Viant M.R. Proposed minimum reporting standards for chemical analysis: chemical analysis working group (CAWG) metabolomics standards initiative (MSI) // Metabolomics. 2007. V. 3. P. 211. <https://doi.org/10.1007/s11306-007-0082-2>
 16. Schymanski E.L., Jeon J., Gulde R., Fenner K., Ruf M., Singer H.P., Hollender J. Identifying small molecules via high resolution mass spectrometry: Communicating confidence // Environ. Sci. Technol. 2014. V. 48. № 4. P. 2097. <https://doi.org/10.1021/es5002105>
 17. Alygizakis N., Lestremau F., Gago-Ferrero P., Gil-Solsona R., Arturi K., Hollender J., Schymanski E.L., Dullio V., Slobodnik J., Thomaidis N.S. Towards a harmonized identification scoring system in LC-HRMS/MS based non-target screening (NTS) of emerging contaminants // Trends Anal. Chem. 2023. V. 159. Article 116944. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.116944>
 18. Methods, Method Verification and Validation. <https://www.fda.gov/media/73920/download> (19.03.2023).
 19. Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EURLALL/SANTE_11312_2021.pdf (19.03.2023).
 20. Minimum criteria for chromatographic-mass spectrometric confirmation of the identity of analytes for doping control purposes. https://www.wada-ama.org/sites/default/files/2023-02/td2023idcrv1.1_eng_final.pdf (19.03.2023).
 21. Milman B.L., Zhurkovich I.K. Identification performance of low-molecular compounds by searching tandem mass spectral libraries with simple peak matching // Mass Spectrom. Lett. 2018. V. 9. № 3. P. 73. <https://doi.org/10.5478/MSL.2018.9.3.73>
 22. Lehotay S.J. Comparison of analyte identification criteria and other aspects in triple quadrupole tandem mass spectrometry: Case study using UHPLC-MS/MS for regulatory analysis of veterinary drug residues in liquid and powdered eggs // Anal. Bioanal. Chem. 2022. V. 414. № 1. P. 287. <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03380-x>
 23. PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> (20.03.2023).
 24. Dührkop K., Nothias L.F., Fleischauer M., Reher R., Ludwig M., Hoffmann M.A., Petras D., Gerwick W.H., Rousu J., Dorrestein P.C., Böcker S. Systematic classification of unknown metabolites using high-resolution fragmentation mass spectra // Nat. Biotechnol. 2021. V. 39. № 4. P. 462. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0740-8>

25. *Rey-Stolle F., Dudzik D., Gonzalez-Riano C., Fernández-García M., Alonso-Herranz V., Rojo D., Barbas C., García A.* Low and high resolution gas chromatography-mass spectrometry for untargeted metabolomics: A tutorial // *Anal. Chim. Acta.* 2022. V. 1210. Article 339043. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.339043>
26. *Caballero-Casero N., Belova L., Vervliet P., Antignac J.P., Castaño A., Debrauwer L., López M.E., Huber C., Klanova J., Krauss M., Lommen A., Mol H.G.J., Oberacher H., Pardo O., Price E.J., Reinstadler V., Vitale C.M., Van Nuijs A.L.N., Covaci A.* Towards harmonized criteria in quality assurance and quality control of suspect and non-target LC-HRMS analytical workflows for screening of emerging contaminants in human biomonitoring // *Trends Anal. Chem.* 2021. V. 136. Article 116201. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116201>
27. *Misra B.B.* New software tools, databases, and resources in metabolomics: Updates from 2020 // *Metabolomics.* 2021. V. 17. № 5. P. 49. <https://doi.org/10.1007/s11306-021-01796-1>
28. *Milman B.L., Zhurkovich I.K.* The chemical space for non-target analysis // *Trends Anal. Chem.* 2017. V. 97. P. 179. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.013>
29. CAS. <https://www.cas.org/about/cas-content> (20.03.2023).
30. ChemSpider. <http://www.chemspider.com> (20.03.2023).
31. CompTox Chemistry Dashboard. <https://comptox.epa.gov/dashboard> (20.03.2023).
32. NORMAN-SLE. <http://www.norman-network.com/?q=node/236> (20.03.2023).
33. The human metabolome database (HMDB). <https://hmdb.ca> (20.03.2023).
34. *Sorokina M., Steinbeck C.* Review on natural products databases: where to find data in 2020 // *J. Cheminf.* 2020. V. 12. № 1. P. 20. <https://doi.org/10.1186/s13321-020-00424-9>
35. FooDB. <https://foodb.ca/compounds> (20.03.2023).
36. *O'Shea K., Misra B.B.* Software tools, databases and resources in metabolomics: Updates from 2018 to 2019 // *Metabolomics.* 2020. V. 16. № 3. P. 35. <https://doi.org/10.1007/s11306-020-01657-3>
37. *Banimfreg B.H., Shamayleh A., Alshraideh H.* Survey for computer-aided tools and databases in metabolomics // *Metabolites.* 2022. V. 12. № 10. P. 1002. <https://doi.org/10.3390/metabo12101002>
38. *Ludwig M.* Bayesian methods for small molecule identification. Doctoral dissertation. Friedrich-Schiller-Universität, Jena. 2020. https://www.db-thueringen.de/servlets/MCRFileNodeServlet/dbt_derivate_00050369/dissludwig.pdf (20.03.2023).
39. *Milman B.L., Konopelko L.A.* Identification of chemical substances by testing and screening of hypotheses I. General // *Fresenius J. Anal. Chem.* 2000. V. 367. P. 621. <https://doi.org/10.1007/s002160000426>
40. *Milman B.L., Kovrizhnykh M.A.* Identification of chemical substances by testing and screening of hypotheses II. Determination of impurities in n-hexane and naphthalene: II. Determination of impurities in n-hexane and naphthalene // *Fresenius J. Anal. Chem.* 2000. V. 367. P. 629. <https://doi.org/10.1007/s002160000427>
41. *Milman B.L.* A procedure for decreasing uncertainty in the identification of chemical compounds based on their literature citation and cocitation. Two case studies // *Anal. Chem.* 2002. V. 74. № 7. P. 1484. <https://doi.org/10.1021/ac010611p>
42. *Milman B.L.* Literature-based generation of hypotheses on chemical composition using database co-occurrence of chemical compounds // *J. Chem. Inf. Model.* 2005. V. 45. № 5. P. 1153. <https://doi.org/10.1021/ci049716u>
43. *Little J.L., Cleven C.D., Brown S.D.* Identification of “known unknowns” utilizing accurate mass data and chemical abstracts service databases // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2011. V. 22. № 2. P. 348. <https://doi.org/doi:10.1007/s13361-010-0034-3>
44. *Little J.L., Williams A.J., Pshenichnov A., Tkachenko V.* Identification of “known unknowns” utilizing accurate mass data and ChemSpider // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2012. V. 23. № 1. P. 179. <https://doi.org/10.1007/s13361-011-0265-y>
45. *Ridder L., Van der Hooft J.J.J., Verhoeven S.* Automatic compound annotation from mass spectrometry data using MAGMa // *Mass Spectrom.* 2014. V. 3. № 2. P. S0033. <https://doi.org/10.5702/massspectrometry.S0033>
46. *Woldegebriel M., Vivó-Truyols G.* A new Bayesian approach for estimating the presence of a suspected compound in routine screening analysis // *Anal. Chem.* 2016. V. 88. № 19. P. 9843. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b03026>
47. *Ruttkies C., Schymanski E.L., Wolf S., Hollender J., Neumann S.* MetFrag relaunched: incorporating strategies beyond in silico fragmentation // *J. Cheminf.* 2016. V. 8. № 1. P. 1. <https://doi.org/10.1186/s13321-016-0115-9>
48. *Blaženović I., Kind T., Torbašinović H., Obrenović S., Mehta S.S., Tsugawa H., Wermuth T., Schauer N., Jahn M., Biedendieck R., Jahn D., Fiehn O.* Comprehensive comparison of in silico MS/MS fragmentation tools of the CASMI contest: Database boosting is needed to achieve 93% accuracy // *J. Cheminf.* 2017. V. 9. P. 32. <https://doi.org/10.1186/s13321-017-0219-x>
49. *McEachran A.D., Chao A., Al-Ghoul H., Lowe C., Grulke C., Sobus J.R., Williams A.J.* Revisiting five years of CASMI contests with EPA identification

- tools // *Metabolites*. 2020. V. 10. № 6. P. 260. <https://doi.org/10.3390/metabo10060260>
50. Мильман Б.Л., Островидова Е.В., Журкович И.К. Большие химические базы данных свободного доступа в нецелевом масс-спектрометрическом анализе // *Масс-спектрометрия*. 2020. Т. 17. № 2. С. 87. <https://doi.org/10.25703/MS.2020.17.23> (Milman B.L., Ostrovidova E.V., Zhurkovich I.K. Big free-access chemical databases in non-target mass spectrometry analysis // *J. Anal. Chem.* 2021. V. 76. P. 1477.) <https://doi.org/10.1134/S1061934821130086>
51. Мильман Б.Л., Журкович И.К. Популярность химических соединений. О чем это? // *Аналитика*. 2020. Т. 10. № 6. С. 464. <https://doi.org/10.22184/2227-572X.2020.10.6.464.469>
52. Milman B.L., Zhurkovich I.K. Statistics of the popularity of chemical compounds in relation to the non-target analysis // *Molecules*. 2021. V. 26. № 8. P. 2394. <https://doi.org/10.3390/molecules26082394>
53. Schymanski E.L., Kondić T., Neumann S., Thiessen P.A., Zhang J., Bolton E.E. Empowering large chemical knowledge bases for exposomics: PubChemLite meets MetFrag // *J. Cheminf.* 2021. V. 13. № 1. P. 19. <https://doi.org/10.1186/s13321-021-00489-0>
54. Мильман Б.Л., Журкович И.К. Экспосом и химии // *Аналитика*. 2023. Т. 13. № 1. С. 56. <https://doi.org/10.22184/2227-572X.2023.13.1.56.59>
55. Hoffmann M.A., Kretschmer F., Ludwig M., Böcker S. MAD HATTER correctly annotates 98% of small molecule tandem mass spectra searching in PubChem // *Metabolites*. 2023. V. 13. № 3. P. 314. <https://doi.org/10.3390/metabo13030314>
56. Cave J.R., Parker E., Lebrilla C., Waterhouse A.L. Omics forecasting: Predictive calculations permit the rapid interpretation of high-resolution mass spectral data from complex mixtures // *J. Agric. Food Chem.* 2019. V. 67. № 48. С. 13318. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b04384>
57. Milman B.L., Zhurkovich I.K. Mass spectral libraries: A statistical review of the visible use // *Trends Anal. Chem.* 2016. V. 80. P. 636. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.04.024>
58. Bittremieux W., Wang M., Dorrestein P.C. The critical role that spectral libraries play in capturing the metabolomics community knowledge // *Metabolomics*. 2022. V. 18. № 12. P. 94. <https://doi.org/10.1007/s11306-022-01947-y>
59. Samokhin A., Sotnezova K., Revelsky I. Predicting the absence of an unknown compound in a mass spectral database // *Eur. J. Mass Spectrom.* 2019. V. 25. № 6. P. 439. <https://doi.org/10.1177/1469066719855503>
60. Chua C.K., Lv Y., Zhao W., Ren Y., Zhang H.J. Improving annotation of known-unknowns with accurately reconstructed mass spectra // *Int. J. Mass Spectrom.* 2020. V. 451. Article 116321. <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2020.116321>
61. Samokhin A.S., Matyushin D.D. How searching against multiple libraries can lead to biased results in GC/MS-based metabolomics // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2023. V. 37. № 3. P. e9437. <https://doi.org/10.1002/rcm.9437>
62. Oberacher H., Sasse M., Antignac J.P., Guitton Y., Debrauwer L., Jamin E.L., Schulze T., Krauss M., Covacci A., Caballero-Casero N., Rousseau K. A European proposal for quality control and quality assurance of tandem mass spectral libraries // *Environ. Sci. Eur.* 2020. V. 32. P. 1. <https://doi.org/10.1186/s12302-020-0031>
63. Kretzler C.A., Thallinger G.G. A map of mass spectrometry-based in silico fragmentation prediction and compound identification in metabolomics // *Briefings Bioinf.* 2021. V. 22. № 6. P. bbab073. <https://doi.org/10.1093/bib/bbab073>
64. Milman B.L. General principles of identification by mass spectrometry // *Trends Anal. Chem.* 2015. V. 69. P. 24. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.12.009>
65. Montenegro-Burke J.R., Guijas C., Siuzdak G. METLIN: A tandem mass spectral library of standards / *Computational Methods and Data Analysis for Metabolomics* / Ed. Li S. USA: Clifton, 2020. P. 149. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0239-3_9
66. m/zCloud. <https://www.mzcloud.org> (22.03.2023).
67. MassBank. <https://massbank.eu/MassBank/Contents> (22.03.2023).
68. Lee S., Hwang S., Seo M., Shin K.B., Kim K.H., Park G.W., Kim J.Y., Yoo J.S., No K.T. BMDMS-NP: A comprehensive ESI-MS/MS spectral library of natural compounds // *Phytochemistry*. 2020. V. 177. Article 112427. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112427>
69. Davidsen A., Mardal M., Linnet K., Dalsgaard P.W. How to perform spectrum-based LC-HR-MS screening for more than 1,000 NPS with HighResNPS consensus fragment ions // *PloS One*. 2020. V. 15. № 11. Article e0242224. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242224>
70. Li Y., Zhu W., Xiang Q., Kim J., Dufresne C., Liu Y., Li T., Chen S. Creation of a plant metabolite spectral library for untargeted and targeted metabolomics // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 24. № 3. P. 2249. <https://doi.org/10.3390/ijms24032249>
71. Tada I, Tsugawa H, Meister I, Zhang P, Shu R, Katsumi R, Wheelock CE, Arita M, Chaleckis R. Creating a reliable mass spectral-retention time library for all ion fragmentation-based metabolomics // *Metabolites*. 2019. V. 9. № 11. P. 251. <https://doi.org/10.3390/metabo9110251>
72. King E., Overstreet R., Nguyen J., Ciesielski D. Augmentation of MS/MS Libraries with spectral interpolation for improved identification // *J. Chem. Inf. Model.* 2022. V. 62. № 16. P. 3724. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.2c00620>

73. Kim S., Kato I., Zhang X. Comparative analysis of binary similarity measures for compound identification in mass spectrometry-based metabolomics // *Metabolites*. 2022. V. 12. № 8. P. 694. <https://doi.org/10.3390/metabo12080694>
74. Bittremieux W., Schmid R., Huber F., Van der Hooft J. J., Wang M., Dorrestein P.C. Comparison of cosine, modified cosine, and neutral loss based spectrum alignment for discovery of structurally related molecules // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2022. V. 33. № 9. P. 1733. <https://doi.org/10.1021/jasms.2c00153>
75. Li Y., Kind T., Folz J., Vaniya A., Mehta S.S., Fiehn O. Spectral entropy outperforms MS/MS dot product similarity for small-molecule compound identification // *Nat. Methods*. 2021. V. 18. № 12. P. 1524. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01331-z>
76. Roberts M.J., Moorthy A.S., Sisco E., Kearsley A.J. Incorporating measurement variability when comparing sets of high-resolution mass spectra // *Anal. Chim. Acta*. 2022. V. 1230. Article 340247. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.340247>
77. Matyushin D.D., Sholokhova A.Y., Buryak A.K. Deep learning driven GC-MS library search and its application for metabolomics // *Anal. Chem.* 2020. V. 92. № 17. P. 11818. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c02082>
78. Huber F., Van der Burg S., Van der Hooft J.J., Ridder L. MS2DeepScore: A novel deep learning similarity measure to compare tandem mass spectra // *J. Cheminform.* 2021. V. 13. № 1. P. 84. <https://doi.org/10.1186/s13321-021-00558-4>
79. GNPS. <https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/static/gnps-splash.jsp> (23.03.2023).
80. Аксенов А.А. Гармония химического пространства // *Лаборатория и производство*. 2019. № 6. P. 8. <https://doi.org/10.32757/2619-0923.2019.6.10.8.15>
81. Quinlan Z.A., Koester I., Aron A.T., Petras D., Aluwihare L.I., Dorrestein P.C., Nelson C.E., Kelly L.W. ConCISE: Consensus annotation propagation of ion features in untargeted tandem mass spectrometry combining molecular networking and in silico metabolite structure prediction // *Metabolites*. 2022. V. 12. № 12. P. 1275. <https://doi.org/10.3390/metabo12121275>
82. Neto F.C., Raftery D. Expanding urinary metabolite annotation through integrated mass spectral similarity networking // *Anal. Chem.* 2021. V. 93. № 35. P. 12001. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c02041>
83. Elie N., Santerre C., Touboul D. Generation of a molecular network from electron ionization mass spectrometry data by combining MZmine2 and MetGem software // *Anal. Chem.* 2019. V. 91. № 18. P. 11489. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02802>
84. Olivon F., Elie N., Grelier G., Roussi F., Litaudon M., Touboul D. MetGem software for the generation of molecular networks based on the t-SNE algorithm // *Anal. Chem.* 2018. V. 90. № 23. P. 13900. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b03099>
85. Chen L., Lu W., Wang L., Xing X., Chen Z., Teng X., Zeng X., Muscarella A.D., Shen Y., Cowan A., McReynolds M.R., Kennedy B.J., Lato A.M., Campagna S.R., Singh M., Rabinowitz J.D. Metabolite discovery through global annotation of untargeted metabolomics data // *Nat. Met.* 2021. V. 18. № 11. P. 1377. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01303-3>
86. Zhou Z., Luo M., Zhang H., Yin Y., Cai Y., Zhu Z.J. Metabolite annotation from knowns to unknowns through knowledge-guided multi-layer metabolic networking // *Nat. Commun.* 2022. V. 13. № 1. P. 6656. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34537-6>
87. Treen D.G., Wan, M., Xing S., Louie K.B., Huan T., Dorrestein P.C., Northen T.R., Bowen B.P. SIMILE enables alignment of tandem mass spectra with statistical significance // *Nat. Commun.* 2022. V. 13. № 1. P. 2510. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-30118-9>
88. Ljoncheva M., Stepišnik T., Džeroski S., Kosjek T. Cheminformatics in MS-based environmental exposomics: Current achievements and future directions // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2020. V. 28. P. e00099. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2020.e00099>
89. Fan Z., Alley A., Ghaffari K., Ressom H.W. MetFID: Artificial neural network-based compound fingerprint prediction for metabolite annotation // *Metabolomics*. 2020. V. 16. P. 1. <https://doi.org/10.1007/s11306-020-01726-7>
90. Young A., Wang B., Röst H. MassFormer: Tandem mass spectrum prediction with graph transformers // *arXiv Preprint*. 2021. arXiv:2111.04824. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2111.04824>
91. Murphy M., Jegelka S., Fraenkel E., Kind T., Healey D., Butler T. Efficiently predicting high resolution mass spectra with graph neural networks // *arXiv Preprint*. 2023. arXiv:2301.11419. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2301.11419>
92. Hoffmann M.A., Nothias L.F., Ludwig M., Fleischauer M., Gentry E.C., Witting M., Dorrestein P.C., Dührkop K., Böcker S. High-confidence structural annotation of metabolites absent from spectral libraries // *Nat. Biotechnol.* 2022. V. 40. № 3. P. 411. <https://doi.org/10.1038/s41587-021-01045-9>
93. Bremer P.L., Vaniya A., Kind T., Wang S., Fiehn O. How well can we predict mass spectra from structures? Benchmarking competitive fragmentation modeling for metabolite identification on untrained tandem mass spectra // *J. Chem. Inf. Model.* 2022. V. 62. № 17. P. 4049. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.2c00936>
94. Milman B.L., Ostrovidova E.V., Zhurkovich I.K. Isomer differentiation using in silico MS² spectra. A case study for the CFM-ID mass spectrum predictor // *Mass*

- Spectrom. Lett. 2019. V. 10. № 3. P. 93.
<https://doi.org/10.5478/MSL.2019.10.3.93>
95. Wang F., Liigand J., Tian S., Arndt D., Greiner R., Wishart D.S. CFM-ID 4.0: More accurate ESI-MS/MS spectral prediction and compound identification // *Anal. Chem.* 2021. V. 93. № 34. P. 11692.
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c01465>
96. Koopman J., Grimme S. From QCEIMS to QCxMS: A tool to routinely calculate CID mass spectra using molecular dynamics // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2021. V. 32. № 7. P. 1735.
<https://doi.org/10.1021/jasms.1c00098>
97. Schnegotzki R., Koopman J., Grimme S., Süßmuth R.D. Quantum chemistry-based molecular dynamics simulations as a tool for the assignment of ESI-MS/MS spectra of drug molecules // *Chem. – Eur. J.* 2022. V. 28. № 27. Article e202200318.
<https://doi.org/10.1002/chem.202200318>
98. Dührkop K., Fleischauer M., Ludwig M., Aksenov A.A., Melnik A.V., Meusel M., Dorrestein P.C., Rousu J., Böcker S. SIRIUS 4: A rapid tool for turning tandem mass spectra into metabolite structure information // *Nat. Methods.* 2019. V. 16. № 4. P. 299.
<https://doi.org/10.1038/s41592-019-0344-8>
99. Stravs M.A., Dührkop K., Böcker S., Zamboni N. MSNovelist: De novo structure generation from mass spectra // *Nat. Methods.* 2022. V. 19. № 7. P. 865.
<https://doi.org/10.1038/s41592-022-01486-3>
100. Zulfiqar M., Gadelha L., Steinbeck C., Sorokina M., Peters K. MAW: The reproducible metabolome annotation workflow for untargeted tandem mass spectrometry // *J. Cheminform.* 2023. V. 15. № 1. P. 32.
<https://doi.org/10.1186/s13321-023-00695-y>
101. Liu Y., De Vijlder T., Bittremieux W., Laukens K., Heyndrickx W. Current and future deep learning algorithms for tandem mass spectrometry (MS/MS)-based small molecule structure elucidation // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2021. P. e9120.
<https://doi.org/10.1002/rcm.9120>
102. Niessen W.M.A., Correa C.R.A. Interpretation of MS-MS Mass Spectra of Drugs and Pesticides. Hoboken: Wiley, 2017. https://toc.library.ethz.ch/objects/pdf03/e01_978-1-118-50018-7_01.pdf (24.03.2023)
103. Steckel A., Schlosser G. An organic chemist's guide to electrospray mass spectrometric structure elucidation // *Molecules.* 2019. V. 24. № 3. P. 611. <https://doi.org/10.3390/molecules24030611>
104. Matyushin D.D., Buryak A.K. Gas chromatographic retention index prediction using multimodal machine learning // *IEEE Access.* 2020. V. 8. P. 223140. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2020.3045047>
105. Matyushin, D.D., Sholokhova A.Y., Karnaeva A.E., Buryak A.K. Various aspects of retention index usage for GC-MS library search: A statistical investigation using a diverse data set // *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 2020. V. 202. P. 104042.
<https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2020.104042>
106. Kireev A., Osipenko S., Mallard G., Nikolaev E., Kostyukevich Y. Comparative prediction of gas chromatographic retention indices for GC/MS identification of chemicals related to chemical weapons convention by incremental and machine learning methods // *Separations.* 2022. V. 9. № 10. P. 265.
<https://doi.org/10.3390/sep9100265>
107. Domingo-Almenara X., Guijas C., Billings E., Montenegro-Burke J.R., Uritboonthai W., Aisporna A.E., Chen E., Benton H.P., Siuzdak G. The METLIN small molecule dataset for machine learning-based retention time prediction // *Nat. Commun.* 2019. V. 10. № 1. P. 5811.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-13680-7>
108. Witting M., Böcker S. Current status of retention time prediction in metabolite identification // *J. Sep. Sci.* 2020. V. 43. № 9-10. P. 1746.
<https://doi.org/10.1002/jssc.202000060>
109. Bonini P., Kind T., Tsugawa H., Barupal D. K., Fiehn O. Retip: Retention time prediction for compound annotation in untargeted metabolomics // *Anal. Chem.* 2020. V. 92. № 11. P. 7515.
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b05765>
110. Fedorova E.S., Matyushin D.D., Plyushchenko I.V., Stavrianidi A.N., Buryak A.K. Deep learning for retention time prediction in reversed-phase liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2022. V. 1664. Article 462792.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462792>
111. Osipenko S., Nikolaev E., Kostyukevich Y. Retention time prediction with message-passing neural networks // *Separations.* 2022. V. 9. № 10. P. 291.
<https://doi.org/10.3390/sep9100291>
112. Lenski M., Maallem S., Zarcone G., Garçon G., Lo-Guidice J. M., Anthérieu S., Allorge D. Prediction of a large-scale database of collision cross-section and retention time using machine learning to reduce false positive annotations in untargeted metabolomics // *Metabolites.* 2023. V. 13. № 2. P. 282.
<https://doi.org/10.3390/metabo13020282>
113. Bouwmeester R., Martens L., Degroeve S. Generalized calibration across liquid chromatography setups for generic prediction of small-molecule retention times // *Anal. Chem.* 2020. V. 92. № 9. P. 6571.
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c00233>
114. Paglia G., Smith A.J., Astarita G. Ion mobility mass spectrometry in the omics era: Challenges and opportunities for metabolomics and lipidomics // *Mass Spectrom. Rev.* 2022. V. 41. № 5. P. 722.
<https://doi.org/10.1002/mas.21686>
115. Belova L., Caballero-Casero N., Van Nuijs A.L., Covaci A. Ion mobility-high-resolution mass spectrometry (IM-HRMS) for the analysis of contaminants of emerging concern (CECs): Database compilation and application to urine samples // *Anal.*

- Chem. 2021. V. 93. № 16. P. 6428.
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c00142>
116. Hohrenk L., Itzel F., Baetz N., Tuerk J., Vosough M., Schmidt T.C. Comparison of software tools for LC-HRMS data processing in non-target screening of environmental samples // *Anal. Chem.* 2019. V. 92. № 2. P. 1898.
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b04095>
117. Dekermanjian J., Labeikovsky W., Ghosh D., Kechris K. MSCAT: A machine learning assisted catalog of metabolomics software tools // *Metabolites.* 2021. V. 11. № 10. P. 678.
<https://doi.org/10.3390/metabo11100678>
118. Schymanski E.L., Singer H.P., Slobodnik J., Ipolyi I.M., Oswald P., Krauss M., Schulze T., Haglund P., Letzel T., Grosse S., Thomaidis N.S., Bletsou A., Zwiener C., Ibáñez M., Portolés T., De Boer R., Reid M.J., Onghena M., Kunkel U., Schulz W., Guillon A., Noyon N., Leroy G., Bados P., Bogialli S., Stipaničev D., Rostkowski P., Hollender J. Non-target screening with high-resolution mass spectrometry: critical review using a collaborative trial on water analysis // *Anal. Bioanal. Chem.* 2015. V. 407. P. 6237.
<https://doi.org/10.1007/s00216-015-8681-7>
119. CASMI. <http://www.casmi-contest.org/2022/index.shtml> (25.03.2023).
120. Pezzatti J., González-Ruiz V., Boccard J., Guillaume D., Rudaz S. Evaluation of different tandem MS acquisition modes to support metabolite annotation in human plasma using ultra high-performance liquid chromatography high-resolution mass spectrometry for untargeted metabolomics // *Metabolites.* 2020. V. 10. № 11. P. 464.
<https://doi.org/10.3390/metabo10110464>
121. Clark T.N., Houriet J., Vidar W.S., Kellogg J.J., Todd D.A., Cech N.B., Linington R.G. Interlaboratory comparison of untargeted mass spectrometry data uncovers underlying causes for variability // *J. Nat. Prod.* 2021. T. 84. №. 3. C. 824.
<https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c01376>
122. Wong J.W., Wang J., Chang J.S., Chow W., Carlson R., Rajski Ł., Fernández-Alba A.R., Self R., Cooke W.K., Lock C.M., Mercer G.E., Mastovska K., Schmitz J., Vavclavik L., Li L., Panawennage D., Pang G.F., Zhou H., Miao S., Ho C., Lam T.C.H., To Y.B.S., Zomer P., Hung Y.C., Lin S.W., Liao C.D., Culberston D., Taylor T., Wu Y., Yu D., Lim P.L., Wu Q., Schirlé-Keller J.P.X., Williams S.M., Johnson Y.S., Nason S.L., Ammirata M., Eitzer B.D., Willis M., Wyatt S., Kwon S.Y., Udawatte N., Priyasantha K., Wan P., Filigenzi M.S., Bakota E.L., Sumarah M.W., Renaud J.B., Parinet J., Biré R., Hort V., Prakash S., Conway M., Pyke J.S., Yang D.H.D., Jia W., Zhang K., Hayward D.G. Collaborative study of a nontarget data acquisition for target analysis (nDATA) workflow using liquid chromatography-high-resolution accurate mass spectrometry for pesticide screening in fruits and vegetables // *J. Agric. Food Chem.* 2021. V. 69. № 44. P. 13200.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c04437>
123. Anderson B.G., Raskind A., Habra H., Kennedy R.T., Evans C.R. Modifying chromatography conditions for improved unknown feature identification in untargeted metabolomics // *Anal. Chem.* 2021. V. 93. № 48. P. 15840.
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c02149>

УДК 543.51 543.05

РАЗВИТИЕ СПОСОБОВ ПРОБОПОДГОТОВКИ И ВВОДА ПРОБ В ИСТОЧНИКИ ВОЗБУЖДЕНИЯ И ИОНИЗАЦИИ ДЛЯ КОМБИНИРОВАННЫХ МЕТОДИК АТОМНО-ЭМИССИОННОГО И МАСС-СПЕКТРАЛЬНОГО АНАЛИЗА

© 2024 г. Н. С. Медведев^{a,*}, А. И. Сапрыкин^{a, b}

^a Институт неорганической химии им. А.В. Николаева Сибирского отделения Российской академии наук
просп. Акад. Лаврентьева, 3, Новосибирск, 630090, Россия

^b Новосибирский национальный государственный исследовательский университет
ул. Пирогова, 1, Новосибирск, 630090, Россия

* E-mail: medvedev@niic.nsc.ru

Поступила в редакцию 07.04.2023 г.

После доработки 27.05.2023 г.

Принята к публикации 01.06.2023 г.

Атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) и двух-струйной дуговой плазмой (АЭС-ДДП) и масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП) – это одни из наиболее информативных методов количественного химического анализа (КХА) веществ высокой чистоты и функциональных материалов, как по набору определяемых элементов, так и по пределам их обнаружения (ПО). При этом аналитических возможностей методов КХА в их стандартном исполнении не всегда достаточно для определения содержания аналитов на уровне 10⁻⁹–10⁻⁷% (ppb и ppt). Использование комбинированных (включающих стадию предварительного концентрирования примесей) методик КХА и альтернативных способов введения проб в ИСП, повышающих эффективность использования концентратов примесей, позволяет снизить инструментальные ПО аналитов на 1–2 порядка величины и расширить возможности методов. В представленном мини-обзоре рассмотрены результаты применения методов АЭС-ИСП, АЭС-ДДП и МС-ИСП для анализа высокочистых Ge, Cd, Te, Zn с концентрированием примесей отгонкой основного компонента, использованием электротермического испарения для ввода проб в плазменные источники, а также применением МС-ИСП с лазерной абляцией для анализа концентратов примесей так называемым “методом тонкого слоя”.

Ключевые слова: анализ веществ высокой чистоты, атомно-эмиссионная спектрометрия, масс-спектрометрия, предварительное концентрирование примесей, электротермическое испарение проб.

DOI: 10.31857/S0044450224020031, EDN: vzhhrp

Высокочистые Si, Ge, Cd, Te, Zn и др. являются основными компонентами полупроводниковых материалов для микро- и оптоэлектроники, таких как соединения A^{III}B^V и A^{II}B^{VI}: CdTe, ZnTe, CdZnTe и CdHgTe [1–5]. Оксид германия высокой чистоты используют для синтеза кристаллов германата висмута Bi₄Ge₃O₁₂ (BGO), применяемого в физике высоких энергий, ядерной физике и медицине [6]. Присутствие примесных элементов даже на уровне ppb может существенно ухудшать функциональные свойства материалов, поэтому с развитием индустрии полупроводниковых и оптических материалов требования к чистоте материалов постоянно возрастают. Существующие инструментальные методики анализа функциональных материалов

и прекурсоров для их синтеза часто не удовлетворяют современным требованиям, поэтому остается актуальной разработка высокоинформативных многоэлементных методик количественного химического анализа (КХА) с пределами обнаружения на уровне ppb и ppt.

В последние годы произошло существенное обновление аналитического оборудования. Расширяются области применения спектрометров с возбуждением и ионизацией в индуктивно связанной плазме. Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП) и атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) – это современные и одни

из наиболее информативных методов КХА, характеризующиеся многоэлементностью и низкими пределами обнаружения (ПО) аналитов. Метод атомно-эмиссионной спектроскопии с двухструйной дуговой плазмой (АЭС-ДДП) менее распространен, но обладает таким преимуществом, как возможность прямого анализа твердых проб без растворения. Стандартный способ пробоподготовки при МС-ИСП- и АЭС-ИСП-анализе – это растворение и разбавление проб с последующим вводом аэрозоля раствора в ИСП путем пневматического распыления [7, 8]. Это простой и универсальный способ, который позволяет достичь высокой стабильности аналитического сигнала. Однако этот способ малоэффективен (в ИСП поступает только около 2% исходного раствора), и его использование требует 10- и даже 100-кратного разбавления. Для АЭС-ДДП-анализа необходимо измельчение твердых проб до частиц субмикронных размеров и перетирание их с высокочистым графитовым порошком [9]. Все это ограничивает аналитические возможности методов МС-ИСП, АЭС-ИСП и АЭС-ДДП, снижая аналитический сигнал и увеличивая вероятность

внесения загрязнений в процессе пробоподготовки. В результате ПО аналитов, как правило, находятся на уровне $n \times 10^{-7}$ – $n \times 10^{-4}$ мас. %

В представленном мини-обзоре рассмотрены пути преодоления указанных ограничений, в основе которых лежит развитие комбинированных (т.е. с предварительным концентрированием примесей) методик КХА и альтернативных высокоэффективных способов введения проб и концентратов примесей в источники возбуждения и ионизации.

Использование отгонки основы проб для предварительного концентрирования примесей. Предварительное концентрирование примесей – это один из способов существенного снижения ПО аналитов. Для ряда объектов, таких как кадмий и теллур высокой чистоты, наиболее приемлема вакуумная отгонка (дистилляция) основы. Ранее [10, 11] разработаны методики анализа кадмия, ртути, теллура методами атомно-эмиссионной спектроскопии с возбуждением спектров в дуге постоянного тока (АЭС-ДПТ) и искровой масс-спектрометрии (ИМС). Основу отгоняли в токе аргона или в вакууме, после чего аналиты переносили на графитовый коллектор и проводили АЭС-ДПТ-анализ.

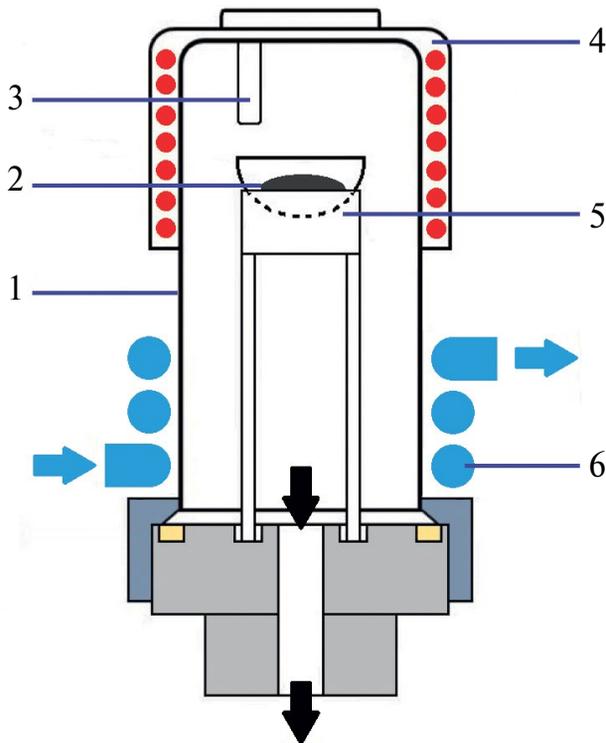


Рис. 1. Схема установки для вакуумной дистилляции. 1 – кварцевая камера, 2 – кварцевая чаша с анализируемой пробой (1–3 г), 3 – углубление для датчика температуры, 4 – нагреватель, 5 – кварцевая подставка, 6 – охлаждающая трубка.

Пределы обнаружения аналитов составили от $n \times 10^{-8}$ до $n \times 10^{-6}$ мас. %

При разработке комбинированных МС-ИСП- и АЭС-ИСП-методик анализа кадмия и теллура высокой чистоты концентрирование примесей проводили вакуумной отгонкой 2–3 г пробы на установке, показанной на рис. 1 [12, 13]. В качестве коллектора для микропримесей использовали оксиды анализируемых металлов, которые формировали на поверхности проб кратковременным напуском воздуха в объем камеры. По результатам опыта введено—найденно установлено, что потери аналитов минимальны при температуре отгонки 390 °С для кадмия и 510 °С для теллура. Продолжительность процесса отгонки составляла 2–3 ч. Затем концентрат примесей массой 10–20 мг смывали перегнанной суббойлерной дистилляцией смесью соляной и азотной кислот (2:1) объемом ~0.3 мл и разбавляли до объема, необходимого для АЭС-ИСП- и МС-ИСП- анализа (3–4 мл). Параллельно проводили контрольный опыт. Достигнутые ПО для 40 примесей

в кадмии и 49 в теллуре составляют от $n \times 10^{-10}$ до $n \times 10^{-6}$ мас. % для МС-ИСП-анализа и от $n \times 10^{-8}$ до $n \times 10^{-5}$ мас. % для АЭС-ИСП-анализа. В табл. 1 сравниваются ПО примесей в при использовании инструментальных и комбинированных методик МС-ИСП- и АЭС-ИСП-анализа кадмия высокой чистоты. Видно, что концентрирование вакуумной отгонкой в сочетании с МС-ИСП и АЭС-ИСП позволяет снизить ПО для таких элементов, как Ag, Au, Ba, Be, Bi, Co, Cu, In, Mn, Ni, Pb, Re, Te, Zn и т.д. до трех порядков величины по сравнению с инструментальным МС-ИСП- и АЭС-ИСП- анализом. Элементы с высокими значениями давления насыщенных паров при 400–500 °С, такие как Hg, P, Se и Tl, теряются в процессе отгонки и не определяются.

Для концентрирования примесей, содержащихся в кремнии и германии и их оксидах высокой чистоты, применяют отгонку основы проб переводом в летучую форму (тетрахлорид германия и тетрафторид кремния). Наиболее простым способом является растворение навески (1–2 г) пробы

Таблица 1. Сравнение пределов обнаружения примесей в кадмии при инструментальном и комбинированном (включающем предварительное концентрирование вакуумной отгонкой основы) анализе методами масс-спектрометрии и атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой

ПО, мас. %	МС-ИСП с предв. конц	МС-ИСП	АЭС-ИСП с предв. конц	АЭС-ИСП
$n \times 10^{-10}$	Ho, Lu, Re, Tb, Tm, Re	—	—	—
$n \times 10^{-9}$	Ag, Au, Ba, Be, Co, Dy, Er, Ga, Hf, La, Mn, Nd, Pb, Sm, Ta, V, Yb	Yb	—	—
$n \times 10^{-8}$	As, Bi, Cr, Cu, Gd, In, Mg, Mo, Nb, Ni, Sb, Sn, Sr, Te, Ti, Y, Zr	Er, Ho, La, Lu, Tb, Tm	Ba, Ho, Li, Lu, Mg, Mn, Sr, Y, Yb	—
$n \times 10^{-7}$	B, Ce, W, Zn	Be, Ce, Co, Ga, Gd, Hf, Mn, Nb, Sb, Re, Sm, Sr, Ta, V, Y, Zr	Ag, Au, B, Be, Ca, Co, Cr, Cu, Dy, Er, Fe, La, Mo, Na, Nb, Ni, Sn, Ti, V, Zn, Zr	Be, Ca, Cu, Dy, Er, Ho, La, Li, Lu, Mg, Mn, Sr, V, Y, Yb, Zn, Zr
$n \times 10^{-6}$	Al, Li	Ag, As, Au, Ba, Cr, Cu, Dy, Hg*, Mo, Nd, Ni, Pb, Sn, Te*, Ti, Tl*, W	Al, As, Ce, Ga, Gd, Hf, In, K, P*, Pb, Re, Sb, Sm, Ta, Tb, W	Al, As, Ba, Cr, Ga, Gd, Hf, Mo, Nb, Ni, P*, Re, Sb, Ti
$n \times 10^{-5}$	—	Al, B, Bi, In, Li, Mg, Se*, Zn	Bi	Ag, Au, B, Bi, Ce, Co, Fe, Hg*, In, K, Na, Pb, Se*, Sm, Sn, Ta, Tb, W
$n \times 10^{-4}$	—	—	—	—

* Элементы, для которых наблюдаются потери при отгонке кадмия.

в смеси соляной и азотной кислот для германия и азотной и фтороводородной кислот для кремния [14, 15]. После этого растворы выпаривают досуха при 80–90 °С, получаемый концентрат примесей переводят в раствор добавлением концентрированной азотной кислоты и разбавляют. Поскольку при данном способе концентрирования анализируемую пробу растворяют в сравнительно большом объеме смеси кислот, возможно внесение неконтролируемых загрязнений и, соответственно, увеличение ПО ряда аналитов, обусловленное контрольным опытом. Другой вариант концентрирования микропримесей в кремнии и германии – реакция отгонки основы переводом германия в тетрахлорид в атмосфере хлора и кремния в тетрафторид в парах фтороводородной кислоты при нагреве в двухкамерных автоклавах микроволновой системы разложения Mars-5 [16–19]. Реакционная отгонка позволяет существенно снизить возможность загрязнения концентратов, поскольку реакция происходит в газовой фазе без контакта с кислотами. Изучение поведения аналитов в процессе отгонки основы в различных температурных режимах показало, что ~45 аналитов количественно остаются в концентрате примесей. Пределы обнаружения аналитов находятся в диапазоне от 1×10^{-10} до 4×10^{-7} мас. %. В качестве примера в табл. 2 дано сравнение ПО при инструментальном и комбинированном способе МС-ИСП-анализа германия высокой чистоты.

Применение электротермического испарения для введения проб и концентратов примесей в источники возбуждения и ионизации. Одна из проблем анализа веществ высокой чистоты и концентратов микропримесей методами АЭС-ИСП и МС-ИСП – это

необходимость их существенного разбавления (до 100 раз для АЭС-ИСП- и до 1 000 раз для МС-ИСП-анализа) в процессе пробоподготовки при использовании стандартных систем пневматического ввода растворов проб в ИСП. Как правило, концентрат примесей представляет собой сухой остаток массой несколько миллиграммов или раствор объемом несколько микролитров, тогда как для проведения МС-ИСП- или АЭС-ИСП-анализа требуется раствор объемом несколько миллилитров [12, 18, 19]. Для АЭС-ДДП-анализа анализируемые пробы также необходимо разбавлять графитовым порошком [9]. Разбавление проб и концентратов примесей приводит к снижению интенсивности сигнала аналитов, повышению вероятности внесения неконтролируемых загрязнений и, соответственно, увеличению их ПО.

Электротермическое испарение (ЭТИ) – это альтернативный высокоэффективный способ введения проб в источники возбуждения и ионизации. Принцип ЭТИ в сочетании с АЭС-ИСП, МС-ИСП и АЭС-ДДП заключается в испарении пробы с резистивно нагреваемой подложки и переносе продуктов испарения потоком инертного газа в плазменный источник. Как правило, для этого используют графитовые печи (кюветы) для атомно-абсорбционного анализа с электротермической атомизацией [20–22]. Схема устройства для ЭТИ приведена на рис. 2. В ряде работ применяли спирали из таких материалов, как вольфрам, тантал, рений и др. [23–25]. Преимущества ЭТИ – значительно большая эффективность ввода (использования) проб в ИСП по сравнению с пневматическим распылением растворов, возможность прямого анализа твердых проб, малый объем пробы,

Таблица 2. Сравнение пределов обнаружения примесей в германии при инструментальном и комбинированном анализе методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, включающем предварительное концентрирование отгонкой основы в виде GeCl_4

ПО, мас. %	МС-ИСП с предв. конц	МС-ИСП
$n \times 10^{-10}$	Be, Dy, Eu, Ho, Lu, Pr, Rh, Sm, Tb, Th, Tm, U, Yb	–
$n \times 10^{-9}$	Ba, Ce, Co, Cs, Er, Gd, Hf, La, Li, Mn, Pd, Pt, Rb, Ru	–
$n \times 10^{-8}$	Ag, Cd, Cr, Cu, Mg, Na, Nb, Nd, Ni, Pb, Sc, Ti	Eu, Ho, Lu, Tm
$n \times 10^{-7}$	Al, Sr, Zn, Zr	Be, Bi, Ce, Dy, Er, Gd, Hf, La, Nd, Pr, Re*, Sm, Ta*, Tb, Yb
$n \times 10^{-6}$	–	Ag, Au*, Ba, Co, Cr, In*, Hg*, Li, Mn, Pb, Rb, Sb*, Se*, Sn*, Te*, W*
$n \times 10^{-5}$	–	Al, B*, Cd, Cu, Na, Nb, Ni, Mg, Mo, Sc, Sr, Ti, Zn

* Элементы, для которых наблюдаются потери при отгонке германия.

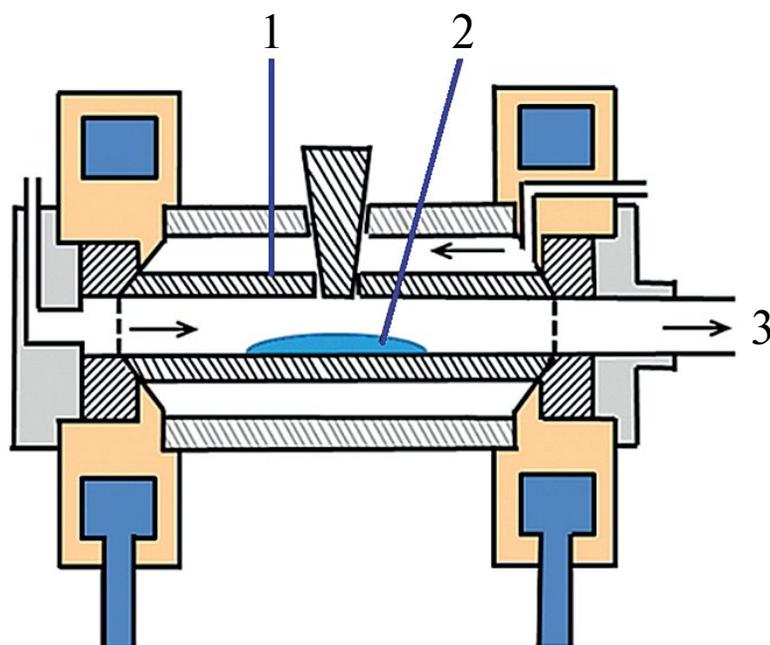


Рис. 2. Схема устройства для электротермического испарения. 1 – графитовая кювета, 2 – анализируемая проба или концентрат примесей, 3 – ввод в плазменный источник.

необходимый для выполнения анализа (достаточно несколько микролитров раствора или несколько миллиграммов твердой пробы). Оптимизация температурной программы ЭТИ позволяет проводить раздельное испарение основы пробы и аналитов в том случае, когда температуры их испарения существенно различаются. Это обеспечивает значительное снижение матричных влияний и ПО аналитов. Основным ограничением является сложность испарения ряда тугоплавких и карбидообразующих элементов, из-за чего снижается количество одновременно определяемых элементов.

Электротермическое испарение использовали для прямого АЭС-ДДП-анализа твердых проб теллура и цинка высокой чистоты [26, 27]. Были выбраны программы нагрева, обеспечивающие раздельное испарение основы проб и аналитов. Для КХА теллура температура испарения (отделения) основы составляла 1 050 °С, для анализа цинка – 910 °С. Испарение и регистрацию сигнала аналитов проводили при 2 400 °С. Методики ЭТИ-АЭС-ДДП-анализа теллура и цинка высокой чистоты позволяют контролировать содержания 15 элементов-примесей с ПО от $n \times 10^{-9}$ до $n \times 10^{-5}$ мас. %, что в 2–100 раз ниже по сравнению с вводом проб в ДДП путем выпаривания их растворов на графитовом порошке (табл. 3).

Для КХА кадмия высокой чистоты разработана методика прямого ЭТИ-АЭС-ИСП-анализа [28]. Снижение матричных влияний достигнуто за счет

использования 2-стадийной температурной программы, обеспечивающей раздельное испарение основы при 900 °С и аналитов при 2 400 °С. Установлено, что на стадии испарения основы пробы происходят полные либо частичные потери таких аналитов, как Ag, As, Hg, Mo, P, Pb, Se, Te и Zn. ЭТИ-АЭС-определение содержаний В, Hf, Nb, Sc, Si, Ta, W, Y и Zr и редкоземельных металлов затруднено по причине их высоких температур плавления/возгонки и склонности к образованию карбидов. Методика прямого ЭТИ-АЭС-ИСП-анализа кадмия позволяет одновременно определять Al, Au, Be, Bi, Co, Cr, Fe, Ga, In, Mn, Ni, Re, Sn и V с ПО в диапазоне от 6×10^{-8} до 1×10^{-5} мас. %, что в 10–100 раз ниже по сравнению с АЭС-ИСП-анализом кадмия с пневматическим введением растворов проб.

Использование ЭТИ для ввода проб при МС-ИСП-анализе позволяет существенно снизить ПО при КХА высокочистого вольфрама. Поскольку вольфрам имеет высокую температуру плавления/возгонки, для ЭТИ-МС-ИСП-анализа навески проб переводили в раствор. Электротермическое испарение проб вольфрама позволило существенно снизить матричные интерференции по сравнению с МС-ИСП-анализом растворов с пневматическим введением в плазму. Температурная программа ЭТИ состояла из стадии сушки (90 °С, 50 с) и стадии испарения аналитов (2 400 °С, 15 с). При ЭТИ-МС-ИСП-анализе ПО 26 примесей: Ag,

Таблица 3. Пределы обнаружения аналитов в теллуре высокой чистоты при анализе методом атомно-эмиссионной спектроскопии с двухструйной дуговой плазмой (АЭС-ДДП) и электротермическим испарением и методом АЭС-ДДП

ПО, мас. %	ЭТИ-АЭС-ДДП	АЭС-ДДП
$n \times 10^{-9}$	Ba, Be, Sr	—
$n \times 10^{-8}$	Mg, Mn	—
$n \times 10^{-7}$	Co, Cr, Ni, Zn	Ba, Be, Mg, Sr
$n \times 10^{-6}$	Al, Au, Ca, Fe, Pb, Sn	Al, Ca, Co, Cr, Fe, Mn, Ni, Sn, Zn
$n \times 10^{-5}$	—	Au, Pb

Al, As, Au, Ba, Be, Bi, Co, Cr, Cs, Fe, Ga, Li, Mg, Mn, Ni, P, Pb, Rb, Sb, Se, Sn, Sr, Te, Tl и Zn находились на уровне $n \times 10^{-7} - n \times 10^{-5}$ мас. %, по сравнению с МС-ИСП-анализом ПО большинства аналитов были снижены в 5–50 раз [29].

Перспективно применение ЭТИ в сочетании с комбинированными методиками КХА для анализа концентратов примесей, например, при анализе кремния, германия и их оксидов высокой чистоты [19, 30]. В этом случае не требуется разбавление концентратов примесей, что позволяет увеличить коэффициент концентрирования, уменьшить вклад контрольного опыта и снизить ПО аналитов. Концентрирование примесей проводили реакционной отгонкой кремния и германия в виде галогенидов. Концентрат примесей переводили в раствор добавлением 50 мкл 0.5 М азотной кислоты и выполняли ЭТИ-АЭС-ИСП-анализ. Коэффициент концентрирования при ЭТИ-АЭС-ИСП-анализе составил 5, тогда как комбинированная АЭС-ИСП-методика предполагает разбавление проб в восемь раз. Температурная программа ЭТИ включала стадию сушки при ~ 95 °С и стадию испарения аналитов при ~ 2400 °С. Измерения показали, что при выбранной температурной программе возможно определение содержаний 26 примесей с ПО в диапазоне от 5×10^{-9} до 2×10^{-6} мас. %. Применение ЭТИ для ввода в ИСП концентратов примесей позволило снизить ПО большинства элементов в 5–50 раз по сравнению с комбинированным (включающем предварительное концентрирование примесей) АЭС-ИСП-анализом оксида германия, к которому предъявляются особые требования по чистоте [31].

Развитие метода тонкого слоя для анализа концентратов примесей методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и лазерной абляцией. Метод тонкого слоя заключается в выпаривании раствора концентрата примесей на поверхности

специально подготовленной кремниевой подложки с последующим анализом сухого остатка методами искровой и лазерной масс-спектрометрии (ЛИМС) [32]. Этот метод успешно применен при разработке методик анализа деионизованной воды, высокочистых кислот (азотной, соляной, фтороводородной и уксусной), кадмия и теллура с предварительным концентрированием примесей [33–35]. Преимуществом метода тонкого слоя является возможность достижения высоких значений коэффициентов концентрирования, что позволяет минимизировать вносимые загрязнения и снизить ПО примесей до $n \times 10^{-10} - n \times 10^{-7}$ мас. %. В настоящее время методы ИМС и ЛИМС уже не используют в аналитической практике, поэтому метод МС-ИСП с лазерной абляцией (ЛА) является наиболее перспективным для реализации метода тонкого слоя.

На примере анализа азотной кислоты [36] и оксида германия высокой чистоты оценены аналитические возможности метода тонкого слоя в сочетании с ЛА-МС-ИСП. Примеси при анализе азотной кислоты концентрировали следующим образом: 1 мл азотной кислоты, дополнительно очищенной перегонкой без кипения, помещали во фторопластовую чашу, после чего проводили выпаривание под ИК-лампой при ~ 80 °С в чистом боксе. После выпаривания концентрат примесей переводили в раствор 0.5 М азотной кислоты объемом 10 мкл с добавлением в качестве внутреннего стандарта индия (концентрация 100 ppb). Концентраты примесей, а также аликваты стандартных растворов объемом 10 мкл наносили на поверхность кремниевой пластины, выпаривали досуха и выполняли ЛА-МС-ИСП-анализ. Измерения аналитических сигналов элементов с различающимися физико-химическими свойствами показали, что значимых различий в их распределении в сухом остатке не наблюдается.

Таблица 4. Пределы обнаружения аналитов в оксиде германия с предварительным концентрированием примесей при анализе методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП) с лазерной абляцией и методом МС-ИСП при анализе концентратов из раствора азотной кислоты

ПО, мас. %	ЛА-МС-ИСП + метод тонкого слоя	МС-ИСП
$n \times 10^{-11}$	Ag, Au, Hf, Re, Ta	
$n \times 10^{-10}$	Be, Ce, Co, Dy, Er, Eu, Ga, Gd, Ho, La, Lu, Nb, Nd, Pb, Pr, Rb, Sc, Sm, Sr, Tb, Tm, V, Y, Yb, Zr	Hf, Ta
$n \times 10^{-9}$	As, Bi, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Sb, Sn, Ti, W, Zn	Ag, Ay, Be, Cd, Ce, Co, Dy, Er, Eu, Gd, Ho, La, Lu, Nd, Pr, Re, Sm, Tb, Tm, Yb
$n \times 10^{-8}$	Al, Ba, Li, Mg,	Ba, Bi, Cr, Cu, Ga, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sb, Sc, Sn, Sr, Ti, V, W, Y, Zr
$n \times 10^{-7}$		Al, As, Li, Mg, Zn

Для ЛА-МС-ИСП-анализа с использованием метода тонкого слоя необходимо обеспечить пробоотбор сухого концентрата примесей с минимальным вкладом материала подложки, что требует оптимизации параметров ЛА. Установлено, что при анализе концентратов примесей оптимальными являются плотность энергии лазера ~ 0.1 Дж/см² и скорость сканирования поверхности ~ 400 мкм/с. Пределы обнаружения элементов при ЛА-МС-ИСП-анализе азотной кислоты с предварительным концентрированием и методом тонкого слоя составили $n \times 10^{-11}$ мас. % для Au, Be, Dy, Eu, Hf, Ho, Li, Lu, Nb, Pr, Re, Ta, Tb, Tm, Y, Yb; $n \times 10^{-10}$ мас. % для Ag, As, Cr, Ce, Co, Er, Ga, Gd, La, Mn, Mo, Nd, Rb, Sb, Sc, Sm, V, W, Zr; $n \times 10^{-9}$ мас. % для Ba, Bi, Cu, Fe, Ni, P, Pb, Se, Sr, Ti; $n \times 10^{-8}$ мас. % для Al, Mg, Zn. Использование метода тонкого слоя обеспечило снижение ПО большинства аналитов в 10–1 000 раз по сравнению с ИСП-МС-анализом азотной кислоты с концентрированием примесей из растворов (в этом случае ПО лежат в диапазоне от 8×10^{-11} до 4×10^{-6} мас. %). В наибольшей степени снижаются ПО тех аналитов, которые ограничены полиатомными интерференциями, связанными с компонентами раствора пробы, например ⁷Li, ²⁷Al, ⁵⁴Fe и т.д. В табл. 4 представлены ПО примесей при ЛА-ИСП-МС-анализе оксида германия методом тонкого слоя, а также ПО при МС-ИСП-анализе концентратов из раствора азотной кислоты. Видно, что метод тонкого слоя для ЛА-МС-ИСП позволяет снизить ПО аналитов в 10–1 000 раз и достичь их рекордных значений $n \times 10^{-11}$ – $n \times 10^{-10}$ мас. % для Ag, As, Au, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Sn, V, PЗМ и др.

* * *

Таким образом, использование предварительного концентрирования микропримесей в сочетании с более эффективными способами ввода концентратов в плазменные источники возбуждения и ионизации (ЭТА, метод тонкого слоя) позволяет значительно улучшить аналитические возможности методов АЭС-ИСП, АЭС-ДДП и МС-ИСП.

Работа поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, проект № 121031700315-2.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dieu Thuy Ung T., Tran T.K. C., Nga Pham T., Nghia Nguyen D., Khang Dinh D., Liem Nguyen Q. CdTe and CdSe quantum dots: synthesis, characterizations and applications in agriculture // Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol. 2012. V. 3. Article 043001. <https://doi.org/10.1088/2043-6262/3/4/043001>
2. Al-Hamdi T.K., McPherson S.W., Swain S.K., Jennings J., Duenow J.N., Zheng X., Albin D.S., Ablekim T., Colegrove E., Amarasinghe M., Ferguson A., Metzger W.K., Szeles C., Lynn K.G. CdTe synthesis and crystal growth using the high-pressure Bridgman technique // J. Crystal Growth. 2020. V. 534. Article 125466. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2019.125466>
3. Kim S., Song J.-Y., Kim D., Hong J., Cho I.J., Kim Y.H., Jeong J.-U., Yoon M.S., Ahn S.-J., Chung W.-K., Nam T.-K., Cho S. Effect of novel double treatment on the properties of CdTe solar cells // Energy Reports. 2021. V. 7. P. 1396. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2021.02.070>
4. Vidal S., Degert J., Tondusson M., Freysz E., Oberle J. Optimized terahertz generation via optical rectification in ZnTe crystals // J. Optical Society of

- America B. 2014. V. 31. P. 149.
<https://doi.org/10.1364/JOSAB.31.000149>
5. *Bakker H., Cho G., Kurz H., Wu Q., Zhang X.-C.* Distortion of terahertz pulses in electro-optic sampling // *J. Opt. Soc. Am. B.* 1998. V. 15. P. 1795.
<https://doi.org/10.1364/JOSAB.15.001795>
 6. *Vasiliev Ya.V., Akhmetshin R.R., Borovliev Yu.A., Grigoriev D.N., Gusev V.A., Shlegel V.N., Smakhtin V.P.* BGO crystals grown by a low thermal gradient Czochralski technique // *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment.* 1996. V. 379. P. 533.
[https://doi.org/10.1016/0168-9002\(96\)00613-4](https://doi.org/10.1016/0168-9002(96)00613-4)
 7. *Sharp B.L.* Pneumatic nebulisers and spray chambers for inductively coupled plasma spectrometry. A review. Part 1. Nebulisers // *J. Anal. At. Spectrom.* 1988. V. 3. P. 613.
 8. *Суриков В.Т., Пупышев А.А.* Введение образцов в индуктивно связанную плазму для спектротрического анализа // *Аналитика и контроль.* 2006. № 2. С. 112.
 9. *Черевко А.С., Юделевич И.Г., Попова В.П., Тагильцев А.П.* Атомно-эмиссионный спектральный анализ порошков с использованием дугового двухструйного плазматрона // *Журн. аналит. химии.* 1988. Т. 43. С. 426.
 10. *Баранова Л.Л., Каплан Б.Я., Назарова М.Г., Разумова Л.С.* Химико-спектральный анализ материалов с отгонкой основы в токе аргона // *Заводск. лаборатория.* 1985. Т. 51. С. 31.
 11. *Шелпакова И.Р., Щербакова О.И., Сапрыкин А.И., Юделевич И.Г., Ковалевский С.В., Россин А.Э., Мирнова Н.Д., Марин А.С.* Спектральный и масс-спектральный анализ кадмия высокой чистоты с концентрированием примесей отгонкой основы // *Высококачественные вещества.* 1987. № 4. С. 203.
 12. *Lundovskaya O.V., Medvedev N.S., Tsygankova A.R., Volzhenin A.V., Saprykin, A.I.* Multi-element optical emission and mass spectrometry analysis of high-purity cadmium with vacuum preconcentration by matrix volatilization // *Spectrochim. Acta B.* 2021. V. 177. Article 106049.
<https://doi.org/10.1016/j.sab.2020.106049>
 13. *Medvedev N.S., Orlov N.A., Saprykin A.I.* Matrix volatilization ICP-OES and ICP-MS for trace elements analysis in high-purity tellurium materials // *At. Spectrosc.* 2022. V. 43. P. 430.
<https://doi.org/10.46770/AS.2022.248>
 14. *Sentimenti E., Mazzetto G., Milella E.* Determination of impurities in germanium tetrachloride, germanium dioxide and high-purity germanium by Zeeman-effect electrothermal atomic absorption spectrometry // *J. Anal. At. Spectrom.* 1993 V. 8. P. 89.
<https://doi.org/10.1039/ja9930800089>
 15. *Niemela M., Kola H., Peramaki P.* Determination of trace impurities in germanium dioxide by ICP-OES, ICP-MS and ETAAS after matrix volatilization: A long-run performance of the method // *Anal. Sci.* 2014. V. 30. P. 735.
<https://doi.org/10.2116/ansci.30.735>
 16. *Guselnikova T. Ya., Tsygankova A.R., Medvedev N.S.* Matrix volatilization in a flow reactor for multi-element analysis of high purity germanium by ICP-MS // *Spectrochim. Acta B.* 2022. V. 197. Article 106544.
<https://doi.org/10.1016/j.sab.2022.106544>
 17. *Цыганкова А.Р., Шелпакова И.Р., Шестаков В.А., Сапрыкин А.И.* Химико-спектральный анализ высококачественного триоксида молибдена // *Заводск. лаборатория. Диагностика материалов.* 2010. Т. 76. № 9. С. 3.
 18. *Цыганкова А.Р., Шаверина А.В., Шелпакова И.Р., Сапрыкин А.И.* Сравнение аналитических возможностей комбинированных методик анализа высококачественных веществ с возбуждением излучения в дуге постоянного тока и индуктивно связанной плазме // *Аналитика и контроль.* 2012. Т. 16. № 4. С. 420.
 19. *Medvedev N.S., Shaverina A.V., Tsygankova A.R., Saprykin A.I.* Analysis of high-purity germanium dioxide by ETV-ICP-AES with preliminary concentration of trace elements // *Talanta.* 2016. V. 155. P. 358.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.02.052>
 20. *Gunn A.M., Millard D.L., Kirkbright G.F.* Optical emission spectrometry with an inductively coupled radiofrequency argon plasma source and sample introduction with a graphite rod electrothermal vaporisation device. Part I. Instrumental assembly and performance characteristics // *Analyst.* 1978. V. 103. P. 1066.
<https://doi.org/10.1039/AN9780301066>
 21. *Kirkbright G.F., Snook R.D.* Volatilization of refractory compound forming elements from a graphite electrothermal atomization device for sample introduction into an inductively coupled argon plasma // *Anal. Chem.* 1979. V. 51. P. 1938.
<https://doi.org/10.1021/ac50048a011>
 22. *Hsu W.H., Jiang S.J., Sahayam A.C.* Determination of Cu, As, Hg and Pb in vegetable oils by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry with palladium nanoparticles as modifier // *Talanta.* 2013. V. 117. P. 268.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.09.013>
 23. *Nixon D.E., Fassel V.A., Kniseley R.N.* Tantalum filament vaporization of microliter samples // *Anal. Chem.* 1974. V. 46. P. 210.
<https://doi.org/10.1021/ac60338a018>
 24. *Barth P., Hauptkorn S., Krivan V.* Analysis of silicon dioxide and silicon nitride powders by electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using a tungsten coil and slurry sampling // *J. Anal. At. Spectrom.* 1997. V. 12. P. 1359.
<https://doi.org/10.1039/ja9920700521>
 25. *Badiei H.R., Lai B., Karanassios V.* Micro- and nano-volume samples by electrothermal, near-torch vaporization sample introduction using removable, interchangeable and portable rhenium coiled-filament assemblies and axially viewed inductively coupled

- plasma-atomic emission spectrometry // Spectrochim. Acta B. 2012. V. 77. P. 19.
<https://doi.org/10.1016/j.sab.2012.07.025>
26. *Kuptsov A.V., Medvedev N.S., Lundovskaya O.V., Saprykin A.I., Labusov V.A.* Direct analysis of tellurium solid samples with a two-jet arc plasma using electrothermal vaporization // J. Anal. At. Spectrom. 2021. V. 36. P. 2669.
<https://doi.org/10.1039/D1JA00286D>
27. *Kuptsov A.V., Medvedev N.S., Polyakova E.V., Saprykin A.I., Labusov V.A.* Using of electrothermal vaporization for direct analysis of zinc solid samples by two-jet arc plasma optical emission spectrometry // Spectrochim. Acta B. 2022. V. 194. Article 106475.
<https://doi.org/10.1016/j.sab.2022.106475>
28. *Medvedev N.S., Lundovskaya O.V., Saprykin A.I.* Direct analysis of high-purity cadmium by electrothermal vaporization inductively coupled plasma optical emission spectrometry // Microchem. J. 2019. V. 145. P. 751.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.11.014>
29. *Medvedev N.S., Volzhenin A.V., Saprykin A.I.* Determination of trace elements in high-purity tungsten by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry // Microchem. J. 2020. V. 157. Article 104970.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104970>
30. *Шаверина А.В., Цыганкова А.Р., Сапрыкин А.И.* Методика ИСП-АЭС анализа кремния с микроволновым разложением и концентрированием // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70. С. 26. <https://doi.org/10.7868/S004445021501017X>.
31. *Высокочистые вещества / Под ред. Чурбанова М., Карпова Ю., Зломанова П., Федорова В.М.: Научный мир, 2018. 996 с.*
32. *Сапрыкин А.И., Шелпакова И.Р., Чанышева Т.А., Юделевич И.Г.* Метод тонкого слоя в искровой масс-спектрометрии. Анализ поверхности кремниевых пластин // Журн. аналит. химии. 1983. Т. 38. № 7. С. 1238.
33. *Шелпакова И.Р., Сапрыкин А.И., Чанышева Т.А., Юделевич И.Г.* Метод тонкого слоя в искровой масс-спектрометрии. Анализ особо чистой воды // Журн. аналит. химии. 1983. Т. 38. № 4. С. 581.
34. *Чанышева Т.А., Шелпакова И.Р., Сапрыкин А.И., Янковская Л.М., Юделевич И.Г.* Анализ кислот особой чистоты химико-спектральным и искровым масс-спектрометрическими методами с концентрированием примесей // Журн. аналит. химии. 1983. Т. 38. № 6. С. 979.
35. *Шелпакова И.Р., Сапрыкин А.И., Юделевич И.Г.* Искровой масс-спектрометрический анализ материалов высокой чистоты с концентрированием примесей // Проблемы аналит. химии. 1984. Т. 7. С. 143.
36. *Медведев Н.С., Курбатова В.Д., Сапрыкин А.И.* Метод тонкого слоя для ЛА-МС-ИСП-анализа концентратов примесей // Журн. аналит. химии. 2023. Т. 78. № 3. С. 208.
<https://doi.org/10.31857/S004445022303009X>

УДК 535.518; 57.083.3

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ПОЛЯРИЗАЦИОННОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИММУНОАНАЛИЗА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИЛОЗИНА В МЁДЕ

© 2024 г. С. А. Еремин^{a,b}, Л. И. Мухаметова^a, Д. А. Арутюнян^a, А. Г. Терещенков^c, Н. В. Сумбатьян^a, А. Д. Прийма^d, И. С. Нестеренко^d, А. Н. Берлина^b, Д. В. Сотников^b

^aМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет Ленинские горы, 1, стр. 3, Москва, 119991, Россия

^bИнститут биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук Ленинский проспект, 33, Москва, 119071, Россия

^cНаучно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова 1 Ленинские горы, 1, стр. 40, Москва, 119234, Россия

^dВсероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов Звенигородское шоссе, 5, Москва, 123022, Россия

Поступила в редакцию 20.04.2023 г.

После доработки 02.08.2023 г.

Принята к публикации 02.08.2023 г.

Разработана методика поляризационного флуоресцентного иммуноанализа для определения антибиотика тилозина в мёде. С этой целью проведена иммунизация кроликов конъюгатом тилозина с бычьим сывороточным альбумином, получены антисыворотки. Оптимизированы условия взаимодействия антисывороток в конкурентном формате с тилозином в пробе и с тилозином, меченым флуоресцеином. Разработанная методика характеризуется пределом обнаружения тилозина 34.7 нг/мл и рабочим диапазоном определяемых концентраций от 65.2 до 564.0 нг/мл. Показана высокая воспроизводимость измерений с помощью портативного детектора: значения относительного стандартного отклонения (sr) лежат в диапазоне 1.5–2.5%. Методика апробирована на образцах мёда; процент открытия варьировал от 98 до 103.8%. Продолжительность анализа без учета подготовки проб – 10 мин.

Ключевые слова: тилозин, антибиотик, поляризация флуоресценции, гомогенный иммуноанализ, конъюгат антиген–флуорофор, получение антисывороток, безопасность пищевой продукции.

DOI: 10.31857/S0044450224020041, **EDN:** vzcxtw

Антибиотики широко применяются в ветеринарии для борьбы с бактериальными инфекциями [1]. При этом распространенным стало добавление антибиотиков в корма для того чтобы обеспечить не только лечение, но и профилактику инфекций [2]. Следствием этого является развитие резистентной микрофлоры в организме конечного потребителя [3, 4]. При несоблюдении дозирования и нарушении сроков ожидания после применения препарата антибиотики попадают в продукты питания – мясо, молоко, яйца и др. [5–7].

Важной проблемой является контаминация антибиотиками продукции пчеловодства, что обусловлено сложностями мониторинга

заболеваемости и массовым профилактическим применением. В мёде и другой продукции пчеловодства обнаруживаются антибиотики разных классов – бета-лактамы (пенициллин, ампициллин), амфениколы (тиамфеникол, хлорамфеникол), тетрациклины (окситетрациклин, тетрациклин), макролиды (тилозин, эритромицин) и аминогликозиды, фторхинолоны (ципрофлоксацин, энрофлоксацин) и др. [8, 9].

К широко используемым в пчеловодстве антибиотикам относится тилозин – бактериостатический препарат из группы макролидов, блокирующий биосинтез белков вследствие образования комплекса с 50S-субъединицей рибосом [10].

Низкая скорость трансформации и перенос по пищевым цепям обуславливают угрозы попадания этого соединения в организм человека [11–13]. Установленные токсические эффекты тилозина [14, 15] привели к разработке нормативных документов, регулирующих предельно допустимые уровни потребления и концентрации этого антибиотика в продуктах питания. Согласно законодательству Евразийского Экономического Союза присутствие остаточных количеств тилозина в мёде не допускается [16].

В соответствии с указанными требованиями для контроля тилозина разработаны методики, использующие ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием [17, 18], инфракрасную спектроскопию [19] и др., характеризующиеся высокой чувствительностью и селективностью и дающие возможность подтвердить структуру определяемого соединения [20–22]. Однако из-за необходимости использования дорогого специализированного оборудования, сложной пробоподготовки (включающей как жидкостную, так и твердофазную экстракцию), высокой стоимости анализа и значительным временным интервалом между отбором проб и получением результатов данные методики непригодны для широкомасштабного первичного скринингового тестирования. Эта задача решается при использовании альтернативных методов – иммунохимических, позволяющих минимизировать либо исключить пробоподготовку, быстро осуществлять необходимые взаимодействия в присутствии компонентов тестируемых проб и регистрировать их результаты простыми, в том числе портативными (переносными), детекторами [23–25]. При контроле антибиотиков, в том числе тилозина, в пищевой продукции наиболее широко применяют иммуноферментный анализ (ИФА) [26–28], иммунохроматографический анализ (ИХА) [29–31] и поляризационный флуоресцентный иммуноанализ (ПФИА) [32]. Особенностью ПФИА, отличающей его от ИФА и ИХА, является проведение всех взаимодействий в растворе без диффузионно-контролируемого формирования детектируемых комплексов на поверхности носителя и без разделения прореагировавших и непрореагировавших компонентов реакционной смеси. При этом формирование иммунных комплексов, отражающее наличие целевого аналита в пробе, регистрируется в режиме реального времени без дополнительных реагентов и взаимодействий. Эти особенности ПФИА делают его относительно простым и экспрессным методом, что определяет интерес к его применению для мониторинга безопасности пищевой продукции [33].

Поляризационный флуоресцентный иммуноанализ для определения низкомолекулярных антигенов основан на конкуренции между содержащимся в пробе аналитом и его производным, меченным флуорофором, за связывание с антителами. Реакционная смесь облучается плоскополяризованным светом, возбуждающим флуорофор, и регистрируется поляризация излучаемого света. Величина поляризации флуоресценции при постоянной температуре и вязкости зависит только от размеров флуоресцирующей молекулы или содержащего ее комплекса, поэтому при формировании комплекса антитела и аналита, меченного флуоресцентной меткой, поляризация флуоресценции изменяется, а степень этого изменения определяется концентрацией в пробе аналита, конкурирующего за связывание с антителом [33].

Основной областью применения ПФИА является медицинская диагностика – мониторинг уровней низкомолекулярных фармацевтических препаратов и регуляторов метаболизма в биологических жидкостях [34, 35]. В ряде работ показана эффективность ПФИА для контроля пищевой продукции на содержание остаточных количеств антибиотиков [36], токсинов [37], пестицидов [38], гормонов [39] и др. Для проведения ПФИА коммерчески доступны серийные стационарные приборы [33], однако для целей скрининга интересен компактный инструментальный прибор, который может применяться во внелaborаторных условиях. В частности, описаны примеры успешного применения в последние годы портативного детектора Sentry [40–42], но они ограничены небольшим числом аналитов и видов тестируемых проб.

Целью данного исследования является разработка методики поляризационного флуоресцентного иммуноанализа с использованием портативного детектора для определения тилозина и ее апробация для анализа проб мёда. Ранее такое сочетание регистрируемого параметра и средств измерений для иммуноопределения тилозина не применяли.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты. В работе использовали N-гидроксисукцинимид (N-ГС), N, N'-дициклогексилкарбодимид (N, N'-ДЦК), тилмикозин, линкомицин, клиндамицин, пирлимицин, спирамицин, эритромицин, вальнемулина гидрохлорид, тиамулин, стрептомицин, рокситромицин, спектиномицин, тилозина тартрат (Sigma Aldrich, США), азид натрия (Serva, США), бычий сывороточный альбумин (БСА) (Fluka, Швейцария), полный и неполный

адьюванты Фрейнда (InvivoGen, Франция), О-(карбоксиметил)гидроксиламин полухлорид (КМО) (Sigma Aldrich, США), тиосемикарбазид флуоресцеина (Fluka, Швейцария), сульфат и гидросульфат натрия (Sigma Aldrich, США), этилацетат (Scharlau, Германия), дихлорметан, метанол, диметилформамид (ДМФА), глицерин (Реахим, Россия), триэтиламин (Merck, Германия), хлороформ ос. ч. (Химмед, Россия).

Материалы и оборудование. Конъюгат тилозин-флуоресцеин (ТИЛ-ФЛУ) очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле 60 (0.063–0.200 мм, 70–230 mesh) (Merck, Германия), для тонкослойной хроматографии (ТСХ) применяли пластины Kieselgel 60 F254 (Merck, Германия) [43]. Для измерений поляризации флуоресценции использовали портативный детектор Sentry 200 (Ellie, США), а для кинетических измерений – флуориметр BEACON2000 (Panvera, США). При обработке данных применяли программное обеспечение Origin (OriginLab, США).

Получение иммуногена. Для синтеза методом активированных эфиров [44] предварительно получали производное тилозина с О-(карбоксиметил)гидроксиламином следующим образом: 5 мг КМО и 2 мг гидросульфата натрия растворяли в 1 мл деионизованной воды. Полученный раствор по каплям добавляли в метанольный раствор тилозина тартрата (53 мг/мл) и перемешивали в течение 2.5 ч при комнатной температуре. После окончания реакции смесь сушили под вакуумом. Полученный остаток растворяли в 1 мл дихлорметана, добавляли 0.5 мл этанола и 1 г безводного сульфата натрия. Смесь оставляли на ночь при комнатной температуре и постоянном перемешивании. После фильтрации растворитель испаряли при 60 °С.

15 мг синтезированного ТИЛ-КМО, 4 мг N, N'-ДЦК и 2 мг N-ГС растворяли в 1 мл ДМФА и перемешивали в течение 12 ч при комнатной температуре. Активированный ТИЛ-КМО по каплям добавляли к 1 мл раствора БСА (10 мг/мл) в 50 мМ карбонатном буферном растворе (рН 9.5) и перемешивали в течение 12 ч при комнатной температуре. Непрореагировавшие компоненты удаляли диализом против 50 мМ фосфатно-солевого буферного раствора (рН 7.2).

Получение антисывороток. Кроликов иммунизировали путем внутрикожного введения конъюгатов ТИЛ-БСА. Эксперименты проводили в соответствии с этическими принципами, изложенными в Европейской директиве (2010/63/ЕС). Вначале 100 мкг ТИЛ-БСА в виде эмульсии в полном

адьюванте Фрейнда вводили в несколько точек на спине. Далее иммуноген вводили с интервалом в 4 недели по 20–50 мкг с использованием неполного адьюванта Фрейнда с добавкой стерильного 0.9%-ного раствора хлорида натрия в соотношении 1:1. Через неделю после каждой иммунизации у кроликов отбирали порцию крови из краевой вены уха; сыворотку отделяли, добавляли к ней глицерин в соотношении 1:1 и хранили при –20 °С.

Получение конъюгата тилозина с флуоресцентным маркером. Синтез проводили, как описано в работе [43]. Раствор тилозина с концентрацией 20 мг/мл в 0.4 М ацетатном буферном растворе (рН 4.7) смешивали с водным раствором флуоресцеин-5-тиосемикарбазида с концентрацией 10 мг/мл в объемном соотношении 1:1. Смесь перемешивали при 50 °С в течение 12 ч, после чего 5%-ным раствором NaHCO₃ доводили рН до 8.5 и экстрагировали продукт синтеза этилацетатом. Органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и упаривали на роторном испарителе. Полученное маслянистое вещество желтого цвета очищали колоночной хроматографией в системе растворителей метанол–хлороформ (1:4, по объему) и затем проводили элюирование метанолом. Выход составил 70%. ТСХ: R_f(CHCl₃–MeOH, 4:1) 0.41, R_f(CHCl₃–MeOH, 5:1) 0.24, R_f(CHCl₃–MeOH–AcOH, 60:10:1) 0.09; τ(ВЭЖХ) = 14.5 мин (градиент 20–80% ацетонитрила в 0.01%-ной водной трифторуксусной кислоте за 30 мин); флуоресценция (0.1 М Трис с рН 9.0): λ_{ex} = 492 нм, λ_{em} = 516 нм; MALDI MS, m/z вычислено для C₆₇H₉₁N₄O₂₁S⁺, 1 319.6, найдено 1 317.5.

Концентрацию конъюгата определяли, используя молярный коэффициент поглощения флуоресцеина ε₄₉₁ = 8.7 × 10⁴ М⁻¹ см⁻¹ [45].

Определение рабочей концентрации конъюгата тилозин-флуоресцеин. Готовили серии разведений конъюгата ТИЛ-ФЛУ в 50 мМ боратном буферном растворе (рН 8.5) (ББ) и измеряли их поляризацию флуоресценции с помощью портативного детектора Sentry 200 при длине волны возбуждения 495 нм и регистрации эмиссии при 530 нм. Критерием выбора рабочей концентрации конъюгата ТИЛ-ФЛУ являлось превышение фонового значения сигнала в 10 раз (фоновым значением сигнала считали значение флуоресценции буферного раствора).

Характеристика взаимодействия конъюгата тилозин-флуоресцеин с антисыворотками. Рабочее разведение антисывороток определяли следующим образом. В пробирках из боросиликатного стекла готовили серию разведений антисывороток от 1:100 до 1:1 000 в ББ в объеме 500 мкл. К ним добавляли по 500 мкл

раствора конъюгата ТИЛ-ФЛУ с концентрацией 5 нМ в том же буферном растворе, выдерживали при комнатной температуре 5 мин и измеряли поляризацию флуоресценции с помощью портативного детектора Sentry 200. Все эксперименты выполняли в двух повторах.

Изучение кинетики взаимодействия тилозин-флуоресцеин с антисывороткой. К 500 мкл конъюгата ТИЛ-ФЛУ в выбранном разведении добавляли 500 мкл антисыворотки против тилозина в разведении 1:1000 в ББ и с использованием флуориметра BEACON2000 измеряли поляризацию флуоресценции в течение 25 мин с 30-секундными интервалами.

Поляризационный флуоресцентный иммуноанализ. В стеклянные пробирки вносили по 50 мкл растворов тилозина в воде (0, 0.001, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100 мкг/мл) и 500 мкл раствора конъюгата ТИЛ-ФЛУ с концентрацией 5 нМ в ББ. Затем добавляли 500 мкл антисыворотки против тилозина в выбранном разведении и через 10 мин регистрировали поляризацию флуоресценции с помощью портативного детектора Sentry 200. Каждое измерение проводили в трех повторах.

Определение аналитических характеристик поляризационного флуоресцентного иммуноанализа. Зависимость поляризации флуоресценции от концентрации тилозина (градуировочную кривую) строили в полулогарифмических координатах и аппроксимировали с помощью четырехпараметрической сигмоидной функции. Значения IC_{10} , IC_{20} , IC_{50} , IC_{80} рассчитывали как концентрации, снижающие аналитический сигнал на 10, 20, 50 и 80% соответственно. Значение IC_{10} оценивали как предел обнаружения, IC_{20} – IC_{80} – рабочий диапазон определяемых концентраций. Значения кросс-реактивности рассчитывали по формуле: $CR(\%) = IC_{50}(\text{ТИЛ})/IC_{50}(\text{аналог}) \times 100\%$.

Подготовку образцов мёда проводили, как описано в работе [22], с некоторыми модификациями. В полипропиленовые пробирки емк. 2 мл помещали 0.3 г мёда и добавляли аликвоты от 0 до 20 мкл раствора тилозина с концентрацией 100 мкг/мл. Образцы перемешивали на вихревом смесителе Vortex-1 (КА, Германия) в течение 1 мин. Затем в каждую пробирку вносили 750 мкл 5 М водного раствора ацетата натрия, инкубировали 30 мин при 37 °С, затем вносили 750 мкл ацетонитрила. Экстракцию проводили в течение 30 мин и центрифугировали при 3 500 g в течение 10 мин. Отбирали 650 мкл верхнего органического слоя, упаривали его до удаления растворителя,

сухой остаток растворяли в 650 мкл деионизованной воды и перемешивали. Полученный экстракт перед анализом разводили в пять раз ББ.

С помощью портативного детектора Sentry 200 регистрировали поляризацию флуоресценции в трех повторах для каждого образца и на основании градуировочной кривой ПФИА определяли концентрации тилозина. Соответствие между введенными и обнаруженными концентрациями тилозина оценивали в процентах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Иммунизация животных и получение антисывороток. Тилозин относится к низкомолекулярным соединениям, его молярная масса составляет 916 г/моль. Для выработки иммунного ответа синтезировали конъюгат тилозина с белком-носителем – бычьим сывороточным альбумином – с соотношением гаптен: белок при синтезе 100:1. Проводили иммунизацию малыми дозами – 20–100 мкг/кролика, такой способ хорошо зарекомендовал себя ранее при получении поликлональных антител против фторхинолонов [46]. В результате от одного кролика получали серию антисывороток, отличавшихся количеством недель с начала иммунизации – 8, 10, 16, 18 и 21. Далее данные антисыворотки обозначены № 1, 2, 3, 4 и 5 соответственно.

Синтез и очистка конъюгатов производного тилозина с флуоресцентной меткой. Для введения флуоресцентной метки в молекулу тилозина выбрали альдегидную группу С20, что позволило получить конъюгат в мягких условиях с хорошим выходом без предварительной защиты функциональных групп антибиотика [43].

Согласно [43] получили конъюгат тилозина с флуоресцеин-5-тиосемикарбазидом (ТИЛ-ФЛУ) (схема 1), очищенный колоночной хроматографией на силикагеле 60. Выход синтеза составил 70%. Препарат растворяли в метаноле и далее для иммуноанализа разбавляли ББ.

Изучение взаимодействия конъюгата тилозин-флуоресцеин с антисыворотками. Взаимодействие синтезированного конъюгата ТИЛ-ФЛУ со специфическими антителами в антисыворотках регистрировали по изменению поляризации флуоресценции. При этом использовали разведения препаратов антисывороток от 100 до 1 200 (данные не приведены), критерием выбора разведения было значение поляризации флуоресценции на уровне 120 mP. Разбавленные антисыворотки смешивали с раствором конъюгата ТИЛ-ФЛУ и через 10 мин

измеряли поляризацию флуоресценции. Данная величина возрастала, что свидетельствовало о связывании антител с конъюгатом ТИЛ-ФЛУ. В качестве отрицательного контроля использовали неиммунную сыворотку кролика, смешивание конъюгата ТИЛ-ФЛУ с которой показало низкие значения поляризации флуоресценции – 53 ± 2 mP. Для сывороток, содержащих антитела к тилозину, наблюдалось изменение поляризации флуоресценции в зависимости от их разведения (рис. 1). Для дальнейшего осуществления конкуренции между меченым тилозином (ТИЛ-ФЛУ) и свободным тилозином за центры связывания антител

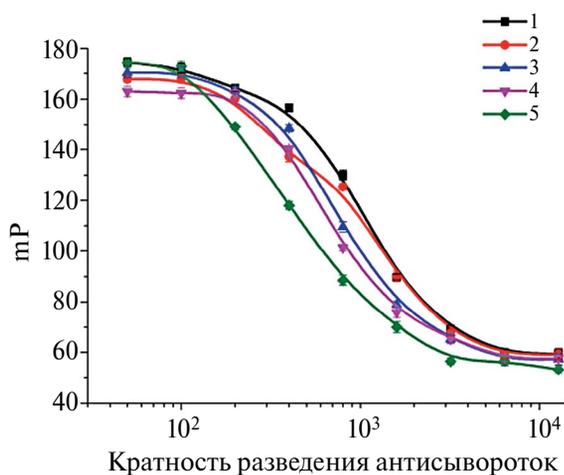


Рис. 1. Изменения поляризации флуоресценции при взаимодействии конъюгата тилозин-флуоресцеин (конечная концентрация 2.5 нМ) с антисыворотками в разных разведениях в боратном буферном растворе. 25 °С, $n = 2$.

использовали разведения антисывороток, обеспечивающие 50%-ное ингибирование сигнала (параметр IC_{50}). Данные величины составили: 1: 1 050 для антисыворотки № 1, 1:1 070 для антисыворотки № 2, 1:750 для антисыворотки № 3, 1:700 для антисыворотки № 4 и 1:400 для антисыворотки № 5. Как видно, наибольшими разведениями характеризовались препараты № 2 и № 1.

Выбор времени взаимодействия конъюгата тилозин–флуоресцеин с антисывороткой. Для изучения кинетики взаимодействия с конъюгатом ТИЛ-ФЛУ использовали антисыворотку № 1 и 5 нМ раствор конъюгата, обеспечивающий десятикратное превышение фонового сигнала. При формировании комплекса антитело–ТИЛ-ФЛУ меняется поляризация флуоресценции. В первые 3 мин наблюдается интенсивный рост сигнала (рис. 2), который затем замедляется и после 6 мин переходит в область плато, стабилизируясь в течение последующих нескольких минут. Время взаимодействия 10 мин выбрали в качестве оптимального и использовали для ПФИА тилозина.

Характеристика поляризационного флуоресцентного иммуноанализа тилозина. После выбора необходимых разведений антисывороток использовали их в конкурентной схеме. Для этой цели к разбавленной антисыворотке добавляли раствор тилозина (в разных концентрациях) в ББ, рабочий раствор конъюгата ТИЛ-ФЛУ и через 10 мин измеряли поляризацию флуоресценции. Полученные градуировочные зависимости (рис. 3) имеют S-образную форму и расположены близко друг к другу. Однако по параметрам кривой (IC_{10} , IC_{20} , IC_{50} , IC_{80}) – см. табл. 1 – наблюдаются различия.

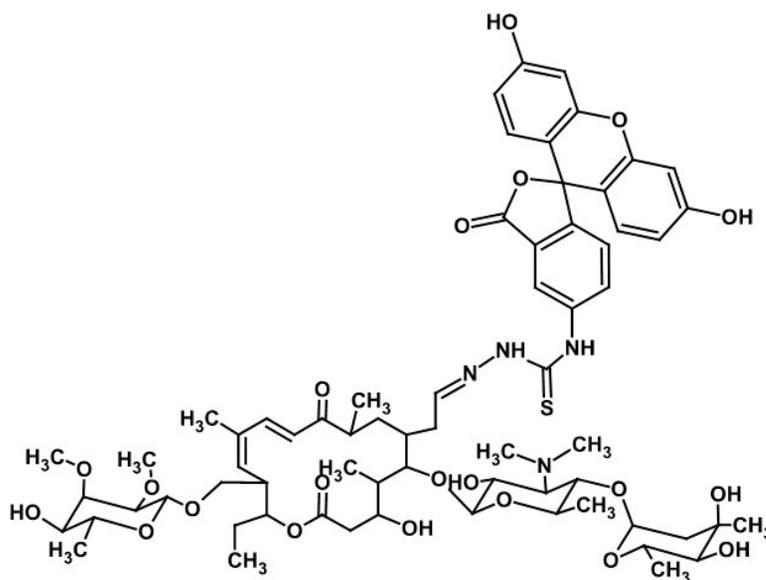


Схема 1. Структура конъюгата тилозина с флуоресцеином.

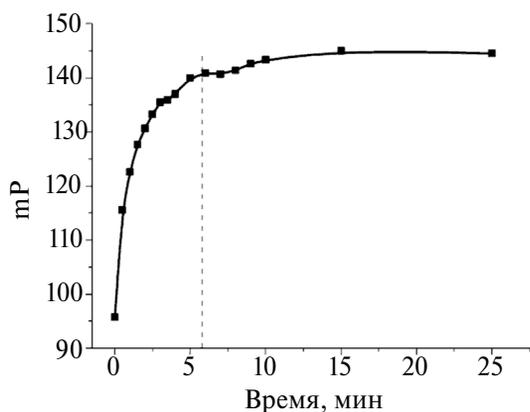


Рис. 2. Кинетика связывания конъюгата тилозин-флуоресцеин (2.5 нМ) с антисывороткой № 1 (разведение 1: 1000 в боратном буферном растворе). 25 °С, $n = 2$.

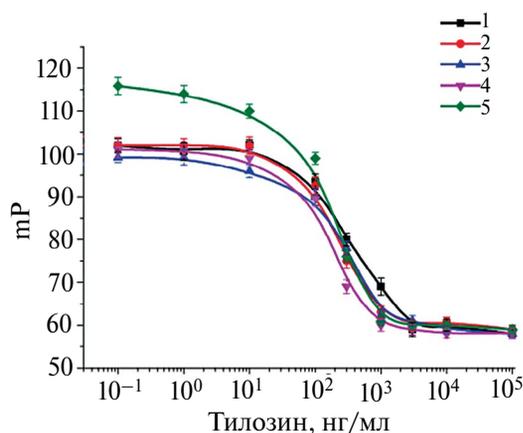


Рис. 3. Градуировочные зависимости для определения тилозина методом поляризационного флуоресцентного иммуноанализа в боратном буферном растворе ($n = 3$).

Для антисыворотки № 1 получены наименьшее значение предела обнаружения (IC_{10}) 51.3 нг/мл, а также наиболее широкий диапазон определяемых концентраций (IC_{20} – IC_{80}) – от 101.5 до 1 050 нг/мл. Значения s_r для соответствующей градуировочной

кривой составили от 1.5 до 2.3%. Данную антисыворотку выбрали для дальнейшей работы.

Установили, что для работы с образцами мёда из-за влияния компонентов матрикса и после проведения экстракции во избежание ухудшения чувствительности ПФИА требуется увеличить содержание антисыворотки в реакционной смеси. Опробовали разведения от 1:100 до 1:1 000 ББ; наилучших аналитических характеристик достигли при использовании антисыворотки № 1 с разведением 1:400 – см. градуировочную кривую на рис. 4. Предел обнаружения тилозина составил 34.7 нг/мл, IC_{50} –191.8 нг/мл, а рабочий диапазон определяемых концентраций (IC_{20} – IC_{80}) – 65.2–564.0 нг/мл. Отметим, что подбор условий проведения ПФИА с учетом особенностей тестируемого матрикса сопровождался нехарактерными изменениями аналитических характеристик – несмотря на возросшее содержание антител в реакционной смеси, несколько (в 1.5 раза) снизился предел обнаружения – с 51.3 нг/мл до 34.7 нг/мл. Аналогичные изменения произошли с рабочим диапазоном – он сдвинулся в область более низких концентраций. Возможное объяснение этого эффекта состоит в поликлональности антител, вследствие чего вклад низко- и высокоаффинных фракций в формирование детектируемых комплексов неодинаков при разных разведениях. Отметим также высокую точность измерений – значения s_r не превышали 2.5%, что значительно ниже, чем в других полевых методов.

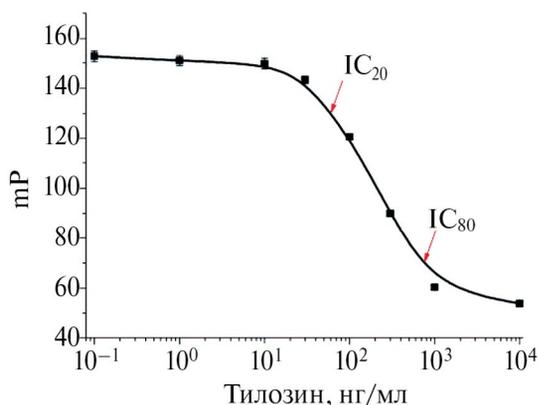
Для оценки селективности ПФИА вместо целевого аналита использовали антибиотики разных классов – тилмикозин, линкомицин, клиндамицин, пирлимицин, спирамицин, эритромицин, вальнемулин, тиамулин, стрептомицин, рокситромицин, спектиномицин. Для всех этих соединений кросс-реактивность не превосходила 0.1% (отсутствовали достоверные изменения сигнала при концентрациях 1 000 нг/мл), т.е. ПФИА высокоспецифичен по отношению к тилозину.

Таблица 1. Аналитические характеристики определения тилозина методом поляризационного флуоресцентного иммуноанализа с использованием различных антисывороток ($n = 3$)

Номер антисыворотки	Предел обнаружения, нг/мл	IC_{20} , нг/мл	IC_{80} , нг/мл	IC_{50} , нг/мл
1	51.3	101.5±1.0	1050±1.2	326.5±1.5
2	56.8	91.9±1.5	476.3±1.4	209.2±1.9
3	64.1	109.7±1.2	688.6±2.1	274.9±2.0
4	56.6	85.6±0.9	353.5±1.3	174.0±1.4
5	62.0	95.5±1.4	419.6±1.5	200.2±1.2

Таблица 2. Уровень открытия тилозина в мёде методом поляризационного флуоресцентного иммуноанализа в экспериментах введено—найдено ($n = 2$)

№ пробы	Введено, мг/кг	Найдено, мг/кг	Процент открытия, %
1	0	0	н.о.
2	1.67	1.42±0.05	99.2±3.0
3	3.33	2.99±0.04	103.8±1.0
4	6.67	5.66±0.05	98.0±1.0

**Рис. 4.** Градуировочная зависимость для определения тилозина методом поляризационного флуоресцентного иммуноанализа в боратном буферном растворе с использованием антисыворотки № 1 в разведении 1:400 ($n = 3$).

Анализ образцов мёда методом введено—найдено. Для экспериментов использовали образцы мёда из различных цветочных групп и регионов, в которых отсутствие тилозина было ранее подтверждено методом ВЭЖХ—МС [18]. Отобранные отрицательные образцы хранили при +4 °С до проведения анализа. Использовали только жидкую часть мёда без нерастворимых включений — фрагментов воска, кусочков прополиса, пыльцы и др. Для экстракции компонентов и введения в образец известного количества тилозина использовали равные объемы ацетонитрила и 5 М раствора ацетата натрия, образующих двухфазную систему. Такая смесь позволяет, с одной стороны, растворять сахара и переводить углеводную часть мёда в водную фазу экстрагирующей смеси, с другой — переводить целевой аналит в органическую фазу без потерь [22]. В результате отбора 86.7% от полученного органического экстракта (650 мкл от общего объема 750 мкл), последующего высушивания и повторного растворения экстрагированных компонентов пробы, а также разведения пробы перед проведением ПФИА тилозин из исходной пробы в 0.3 г перевели в объем 3.25 мл.

Как видно из табл. 2, в таких препаратах после экстракции, повторного растворения и концентрирования (с учетом доли тестируемого экстракта) разработанной методикой ПФИА выявляется 98.0—103.8% добавленного количества тилозина.

Таким образом, разработанная методика ПФИА характеризуется простотой, экспрессностью, приемлемым диапазоном определяемых концентраций, высокой воспроизводимостью и поэтому перспективна для контроля безопасности мёда.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант 20-76-10033.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *De Briyne N., Atkinson J., Borriello S.P., Pokludová L.* Antibiotics used most commonly to treat animals in Europe // *Vet. Rec.* 2014. V. 175. № 13. P. 325.
2. *Barton M.D.* Antibiotic use in animal feed and its impact on human health // *Nutr. Res. Rev.* 2000. V. 13. № 2. P. 279.
3. *Cazer C.L., Eldermire E.R., Lhermie G., Murray S.A., Scott H.M., Gröhn Y.T.* The effect of tylosin on antimicrobial resistance in beef cattle enteric bacteria: A systematic review and meta-analysis // *Prev. Vet. Med.* 2020. V. 176. Article 104934.
4. *Kim J., Ahn J.* Emergence and spread of antibiotic-resistant foodborne pathogens from farm to table // *Food Sci. Biotechnol.* 2022. V. 31. № 12. P. 1481.
5. *Ghimpețeanu O.M., Pogurschi E.N., Popa D.C., Dragomir N., Drăgoteiu T., Mihai O.D., Petcu C.D.* Antibiotic use in livestock and residues in food — A public health threat: A review // *Foods.* 2022. V. 11. № 10. Article 1430.
6. *Liu C., Li B., Liu M., Mao S.* Demand, status, and prospect of antibiotics detection in the environment. // *Sens. Actuators B: Chem.* 2022. V. 369. Article 132383.
7. *Virto M., Santamarina-García G., Amores G., Hernández I.* Antibiotics in dairy production: Where is the problem? // *Dairy.* 2022. V. 3. P. 541.
8. *Bargańska Ž., Namieśnik J., Ślebioda M.* Determination of antibiotic residues in honey // *Trends Anal. Chem.* 2011. V. 30. № 7. P. 1035.
9. *Orso D., Floriano L., Ribeiro L.C., Bandeira N.M., Prestes O.D., Zanella R.* Simultaneous determination

- of multiclass pesticides and antibiotics in honey samples based on ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *Food Anal. Methods*. 2016. V. 9. P. 1638.
10. *De Liguoro M., Cibin V., Capolongo F., Halling-Sørensen B., Montesissa C.* Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming: Evaluation of transfer to manure and soil // *Chemosphere*. 2003. V. 52. № 1. P. 203.
 11. *Thompson T.S., Pernal S.F., Noot D.K., Melathopoulos A.P., van den Heever J.P.* Degradation of incurred tylosin to desmycosin – Implications for residue analysis of honey // *Anal. Chim. Acta*. 2007. V. 586. № 1–2. P. 304.
 12. *Mitchell S.M., Ullman J.L., Teel A.L., Watts R.J.* Hydrolysis of amphenicol and macrolide antibiotics: Chloramphenicol, florfenicol, spiramycin, and tylosin // *Chemosphere*. 2015. V. 134. P. 504.
 13. *Wijayanti A.D., Ardiansyah R.D., Pratama A.M., Haryanto A., Fitriana I.* Validation method for determining enrofloxacin and tylosin levels in broiler liver, kidney, and muscle using high-performance liquid chromatography // *Vet. World*. 2022. V. 15. № 2. P. 268.
 14. *Reybroeck W., Daeseleire E., De Brabander H.F., Herman L.* Antimicrobials in beekeeping // *Vet. Microbiol*. 2012. V. 158. № 1. P. 1.
 15. *Cripps C.J.* Veterinary regulations / *Honey Bee Medicine for the Veterinary Practitioner*. 1st Ed. / Eds. Kane T.R., Faux C.M. John Wiley & Sons, Inc., 2021. P. 191.
 16. Технический регламент Таможенного союза “О безопасности пищевой продукции” (с изменениями на 14 июля 2021 года) ТР ТС 021/2011. 173 с.
 17. *Xu J., Yang M., Wang Y., Yang Y., Tu F., Yi J., Lu H., Jiang X., Chen D.* Multiresidue analysis of 15 antibiotics in honey using modified QuEChERS and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *J. Food Compos. Anal.* 2021. V. 103. Article 104120.
 18. *Granja R., Nio A.M., Zucchetti R., Nio R.M., Patel R., Salerno A.G.* Determination of erythromycin and tylosin residues in honey by LC/MS/MS // *J. AOAC Int.* 2009. V. 92. № 3. P. 975.
 19. *De Freitas A.G.M., Minho L.A.C., de Magalhães B.E.A., Dos Santos W.N.L., Santos L.S., de Albuquerque Fernandes S.A.* Infrared spectroscopy combined with random forest to determine tylosin residues in powdered milk // *Food Chem*. 2021. V. 365. Article 130477.
 20. *Di Corcia A., Nazzari M.* Liquid chromatographic–mass spectrometric methods for analyzing antibiotic and antibacterial agents in animal food products // *J. Chromatogr. A*. 2002. V. 974. № 1. P. 53.
 21. *Peris-Vicente J., Peris-García E., Albiol-Chiva J., Durgbanshi A., Ochoa-Aranda E., Carda-Broch S., Bose D., Esteve-Romero J.* Liquid chromatography, a valuable tool in the determination of antibiotics in biological, food and environmental samples // *Microchem. J*. 2022. V. 177. Article 107309.
 22. *Thompson, T.S., van den Heever J.P., Komarnicki J.A.F.* Tylosin A and desmycosin in honey by salting-out assisted liquid-liquid extraction and aqueous normal phase ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *Anal. Bioanal. Chem*. 2019. V. 411. № 24. P. 6509.
 23. *Ahmed S., Ning J., Peng D., Chen T., Ahmad I., Ali A., Lei Z., Abu bakr Shabbir M., Cheng G., Yuan Z.* Current advances in immunoassays for the detection of antibiotics residues: A review // *Food Agric. Immunol*. 2020. V. 31. № 1. P. 268.
 24. *Dzantiev B.B., Byzova N.A., Urusov A.E., Zherdev A.V.* Immunochromatographic methods in food analysis // *Trends Anal. Chem*. 2014. V. 55. P. 81.
 25. *Lei H., Wang Z., Eremin S.A., Liu Z.* Application of antibody and immunoassay for food safety // *Foods*. 2022. V. 11. № 6. Article 826.
 26. *Gaudin V., Hedou C., Verdon E.* Validation of two ELISA kits for the screening of tylosin and streptomycin in honey according to the European decision 2002/657/EC // *Food Addit. Contam. Part A: Chem*. 2013. V. 30. № 1. P. 93.
 27. *Peng D., Ye S., Wang Y., Chen D., Tao Y., Huang L., Liu Z., Dai M., Wang X., Yuan Z.* Development and validation of an indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the screening of tylosin and tilmicosin in muscle, liver, milk, honey and eggs // *J. Agric. Food Chem*. 2012. V. 60. № 1. P. 44.
 28. *Burkin M., Galvidis I.* Simultaneous separate and group determination of tylosin and tilmicosin in foodstuffs using single antibody-based immunoassay // *Food Chem*. 2012. V. 132. № 2. P. 1080.
 29. *Yang J., Wang Y., Zhang Y., Zeng X., Liu J., Tian Y., Wang H., Xu Z., Shen Y.* Reverse distal similarity of hapten structure enhancing antibody’s group-specificity: Development of an immunochromatographic strip for tylosin and tilmicosin in milk and water // *J. Food Compos. Anal.* 2023. V. 116. Article 105068.
 30. *Hendrickson O.D., Zvereva E.A., Zherdev A.V., Godjevargova T., Xu C., Dzantiev B.B.* Development of a double immunochromatographic test system for simultaneous determination of lincomycin and tylosin antibiotics in foodstuffs // *Food Chem*. 2020. V. 318. Article 126510.
 31. *Li X., Wu X., Wang J., Hua Q., Wu J., Shen X., Sun Y., Lei H.* Three lateral flow immunochromatographic assays based on different nanoparticle probes for on-site detection of tylosin and tilmicosin in milk and pork // *Sens. Actuators B: Chem*. 2019. V. 301. Article 127059.
 32. *Бакай К.А., Прийма А.Д., Сафронова В.А., Нестеренко И.С.* Разработка экспресс-методики для определения тилозина в продукции животноводства // *Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.П. Коваленко*. 2021. V. 82. P. 34.
 33. *Hendrickson O.D., Taranova N.A., Zherdev A.V., Dzantiev B.B., Eremin S.A.* Fluorescence polarization-based

- bioassays: New horizons // *Sensors*. 2020. V. 20. № 24. Article 7132.
34. *Bojescu E.D., Prim D., Pfeifer M.E., Segura J.M.* Fluorescence-polarization immunoassays within glass fiber micro-chambers enable tobramycin quantification in whole blood for therapeutic drug monitoring at the point of care // *Anal. Chim. Acta*. 2022. V. 1225. Article 340240.
35. *Qiu P., Song Z.* Determination of nicotinic acid in food and pharmaceuticals by a simple and rapid fluorescence polarization immunoassay (FPIA) // *Anal. Lett.* 2023. V. 1225. Article 340240.
36. *Zhang Y., Duan C., Li Q., Bai Y., Dong B., Tang Y., He M., Hao C., Wen K., Shen J., Wang Z.* Fluorescence polarization immunoassay based on fragmentary hapten for rapid and sensitive screening of polymyxins in human serum // *Sens. Actuators B: Chem.* 2022. V. 370. Article 132404.
37. *Lippolis V., Porricelli A.C., Mancini E., Ciasca B., Lattanzio V.M., De Girolamo A., Maragos C.M., McCormick S., Li P., Logrieco A.F., Pascale M.* Fluorescence polarization immunoassay for the determination of T-2 and HT-2 toxins and their glucosides in wheat // *Toxins*. 2019. V. 11. № 7. Article 380.
38. *Ding Y., Chen H., Yang Q., Feng L., Hua X., Wang M.* A fluorescence polarization immunoassay for detection of thiacloprid in environmental and agricultural samples // *RSC Adv*. 2019. V. 9. № 63. P. 36825.
39. *He S., Liang D., Xiong J., Wang Z., Zheng P., Zhang H., Ren Z., Jiang H.* Development of a sensitive and rapid fluorescence polarization immunoassay for high throughput screening eight glucocorticoids in beef // *J. Pharm. Biomed Anal.* 2022. V. 214. Article 114719.
40. *Мухаметова Л.И., Еремин С.А., Арутюнян Д.А., Горяйнова О.С., Иванова Т.И., Тиллиб С.В.* Поляризационный флуоресцентный иммуноанализ лактоферрина человека в молоке с использованием однодоменных антител // *Биохимия*. 2022. Т. 87. № 12. С. 2065.
41. *Chen Y., He Q., Shen D., Jiang Z., Eremin S.A., Zhao S.* Fluorescence polarization immunoassay based on a new monoclonal antibody for the detection of the diisobutyl phthalate in yoghurt // *Food Control*. 2019. V. 105. P. 38.
42. *Raysyan A., Eremin S.A., Beloglazova N.V., De Saeger S., Gravel I.V.* Immunochemical approaches for detection of aflatoxin B1 in herbal medicines // *Phytochem. Anal.* 2020. V. 31. № 5. P. 662.
43. *Терещенков А.Г., Шишкина А.В., Карпенко В.В., Чертков В.А., Коневега А.Л., Касацкий П.С., Богданов А.А., Сумбатьян Н.В.* Новые флуоресцентные производные макролидов для изучения взаимодействия антибиотиков и их аналогов с рибосомным туннелем // *Биохимия*. Т. 81. № 10. С. 1439.
44. *Hermanson G.T.* Bioconjugate Techniques, 2nd Ed. Academic Press, 2008. 1323 p.
45. *DeRose P.C., Kramer G.W.* Bias in the absorption coefficient determination of a fluorescent dye, standard reference material 1932 fluorescein solution // *J. Lumin.* 2005. V. 113. № 3. P. 314.
46. *Нестеренко И.С., Бакай К.А., Прийма А.Д., Сафронова В.А., Сарханова А.А., Беляцкая А.В.* Разработка методики конкурентного иммуноферментного анализа для определения остаточных количеств фторхинолонов в продукции животноводства // *Ветеринария*. 2022. V. 1. P. 59.

УДК 543.63+543.544.5.068.7

ИЗУЧЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМА СЕКРЕТАГОГА ГОРМОНА РОСТА ИБУТАМОРЕНА (МК-677) В МОЧЕ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ УЛЬТРАВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

© 2024 г. Е. В. Дмитриева^{а,*}, А. З. Темердашев^а, Э. М. Гашимова^а, А. А. Азарян^а

^аКубанский государственный университет
ул. Ставропольская, 149, Краснодар, 350040 Россия

*E-mail: catherine_dmitrieva@outlook.com

Поступила в редакцию 07.04.2023 г.

После доработки 27.04.2023 г.

Принята к публикации 28.04.2023 г.

Изучен метаболизм непептидного секретатога гормона роста ибутаморена (МК-677) путем анализа образцов мочи человека, полученных в течение двух недель после однократного перорального употребления препарата. Подготовку проб к анализу осуществляли при помощи разбавления образцов и ферментативного гидролиза с последующей жидкостно-жидкостной экстракцией. Для детектирования соединений применяли обращенно-фазовую ультравысокоэффективную жидкостную хроматографию с квадруполь-времяпролетным масс-спектрометрическим детектированием с электрораспылительной ионизацией в режиме регистрации положительно заряженных ионов. В пробах мочи обнаружили соединение в неизменной форме, а также его метаболиты, при этом детектирование гидроксилированного аналита возможно спустя четыре дня после однократного перорального употребления соединения, что делает его наиболее перспективным объектом для детектирования.

Ключевые слова: ибутаморен, МК-677, моча, метаболизм, УВЭЖХ-МС, допинг-контроль.

DOI: 10.31857/S0044450224020057, **EDN:** vywoys

Гормон роста приводит к увеличению мышечной массы тела, уменьшению жировой массы, укреплению мышц, а также выполняет ряд других важных функций в организме человека [1]. Для увеличения выработки гормона роста применяют так называемые “секретатоги гормона роста”, одним из которых является ибутаморен (МК-677, схема 1), разработанный компанией Merck (Германия). Данное соединение имеет низкую молекулярную массу и характеризуется пероральной биодоступностью с увеличенным временем полувыведения [2–4].

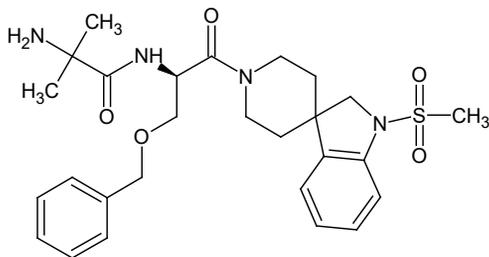


Схема 1. Структурная формула ибутаморена.

При проведении исследований на собаках показано, что данное соединение увеличивает уровень гормона роста с высокой специфичностью [2]. Употребление ибутаморена здоровыми мужчинами, имеющими избыточный вес, в течение двух месяцев привело к устойчивому повышению сывороточных уровней гормона роста, инсулиноподобного фактора роста 1 и белка-3, связывающего инсулиноподобный фактор роста 1 [5]; у пожилых людей МК-677 стимулирует обновление костной ткани [6]. В другом исследовании употребление ибутаморена привело к увеличению уровней гормона роста и инсулиноподобного фактора роста 1, увеличению как мышечной, так и жировой массы тела с небольшим влиянием на минеральную плотность костей. Наиболее частыми побочными эффектами были повышение аппетита, которое уменьшалось в течение нескольких месяцев, а также временные легкие отеки нижних конечностей и мышечные боли [1, 7].

Ибутаморен проходит клинические испытания в виде мезилатной соли – МК-0677 [2]. В рандомизированном исследовании по изучению безопасности и эффективности применения мезилата ибутаморена у пациентов с переломом шейки бедра получены данные о том, что этот препарат увеличивает риск сердечной недостаточности [3, 8]. Несмотря на то, что ибутаморен не прошел клинические испытания, возможно его приобретение на “черном рынке”.

Благодаря заявленным эффектам возможно употребление ибутаморена профессиональными спортсменами, поэтому он внесен в перечень запрещенных к употреблению препаратов Всемирного антидопингового агентства (категория S2, пептидные гормоны и их рилизинг-факторы) [9, 10]. В связи с этим представляет интерес разработка методик определения ибутаморена в биологических жидкостях. Для решения этой задачи использовали несколько подходов. В плазме данное соединение определяли с применением жидкостно-жидкостной экстракции метил-*трет*-бутиловым эфиром [11]. В моче ибутаморен определяли разбавлением образца [12] и твердофазной экстракцией, применяя патроны Oasis HLB после однократного перорального употребления препарата [13], а также используя патроны Oasis WCX [14]. Описано [15] определение ибутаморена путем гидролиза ферментом β -глюкуронидазой *E. coli* и жидкостно-жидкостной экстракции (ЖЖЭ) диэтиловым эфиром с последующим детектированием методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии-тандемной масс-спектрометрии (УВЭЖХ–МС/МС). В перечисленных ранее исследованиях определяли только соединение в неизменной форме. Поиск метаболитов МК-677 проводили в образцах мочи и плазмы лошади [16], однако, поскольку пути метаболизма у животных и людей могут отличаться [17], важным является поиск метаболитов в биологических жидкостях человека для целей допинг-контроля.

Преимуществами мочи в качестве анализируемой матрицы являются неинвазивность, отсутствие болевых ощущений и простота получения образца. Кроме того, моча является предпочтительной матрицей при проведении скрининговых исследований, поскольку обеспечивает более широкое окно для обнаружения соединений, а концентрации соединений и их метаболитов обычно выше в моче по сравнению с плазмой и слюной [18].

Цель данного исследования – изучение метаболизма и кинетики выведения ибутаморена

для его определения в моче человека методом УВЭЖХ–МС.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и реагенты. Стандартный образец МК-677 приобретали у Soyoung Biotech. Inc. (Китай). Использовали β -глюкуронидазу *Escherichia coli* (*E. coli*) (Roche Diagnostics, Германия) и арил-сульфатазу *Helix pomatia* (*H. pomatia*) (Sigma-Aldrich, США). В ходе эксперимента использовали также ацетонитрил (Biosolve, Израиль), метанол (J.T. Baker, Великобритания) квалификации “для ВЭЖХ”, муравьиную кислоту (98%) (Вектон, Россия). Для приготовления фосфатного буферного раствора с pH 6.5 использовали $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 и азид натрия. Для приготовления карбонатного буферного раствора с pH 10 применяли карбонат и гидрокарбонат калия. Ацетатный буферный раствор готовили с использованием ацетата натрия и уксусной кислоты (98%). Все реагенты для приготовления буферных растворов приобретали в Вектон (Россия).

Стандартный раствор ибутаморена с концентрацией 1 мг/мл готовили в ацетонитриле. Для получения растворов с меньшими концентрациями также использовали ацетонитрил.

Оборудование. Для детектирования ибутаморена и его метаболитов использовали ультравысокоэффективный жидкостный хроматограф Bruker Elute, оснащенный аналитической колонкой Phenomenex Kinetex C18 (100×2.1 мм, 1.7 мкм) с соответствующей предохранительной колонкой, соединенный с квадруполь-времяпролетным масс-спектрометром Bruker Maxis Impact с источником электрораспылительной ионизации. Для обработки результатов использовали программное обеспечение Bruker Data Analysis 4.4. Условия масс-спектрометрического детектирования: температура источника ионизации – 250 °С; напряжение на капилляре – 4 кВ; напряжение на экстрагирующей линзе – 500 В; давление газа-распылителя (азот) – 100 кПа; скорость потока газа-осушителя – 5 л/мин; скорость сканирования – 3 Гц; диапазон сканирования масс – 100–1 500 m/z ; давление газа-мишени (азот) – 1.5 мТорр.

Градиентное элюирование осуществляли по программе, представленной в табл. 1, при скорости потока подвижной фазы 0.4 мл/мин, температуре термостата колонки 40 °С и объеме анализируемого образца – 10 мкл. Температура термостатирования образцов была 5 °С.

Таблица 1. Условия градиентного элюирования

Время, мин	0.1%-ная муравьиная кислота в метаноле, %	0.1%-ная муравьиная кислота в воде, %
0.00	5	95
1.00	5	95
2.70	60	40
4.00	60	40
5.00	90	10
7.50	90	10
7.51	5	95
9.00	5	95

Употребление препарата. Доброволец употребил 10 мг соединения, поскольку это количество является безопасным [19]. Сбор образцов проводили в течение двух недель после однократного употребления препарата. Также получили контрольный образец до употребления препарата.

Подготовка проб мочи к анализу. Для изучения метаболизма ибутаморена использовали несколько способов пробоподготовки. Прежде всего проводили пятикратное разбавление образца смесью ацетонитрил–вода (70:30, по объему) с последующим центрифугированием в течение 10 мин при 10 000 об/мин. Надосадочный слой переносили в вialу и анализировали.

Для пробоподготовки, включающей ферментативный гидролиз β -глюкуронидазой *E. coli*, использовали следующие условия: в аликвоту мочи объемом 3 мл вносили 1 мл фосфатного буферного раствора, содержащего фермент β -глюкуронидазу *E. coli*. Затем инкубировали смесь в течение 30 мин при 50 °С для деконъюгации глюкуронидов. После охлаждения до комнатной температуры переносили 100 мкл образца в вialу для анализа. В оставшийся образец (2.9 мл) вносили 1 мл карбонатного буферного раствора (рН 9) и 0.5 г сульфата натрия в качестве высаливателя. Затем добавляли 3 мл диэтилового эфира и перемешивали образец на орбитальном перемешивателе с последующим центрифугированием в течение 5 мин при 4 000 об/мин. Водную фазу вымораживали при –35 °С, затем перенесли органическую фазу в твердотельный нагреватель для упаривания. После этого сухой остаток вновь растворяли в 300 мкл смеси метанол–вода (1:1, по объему) для анализа.

Проводили также ферментативный гидролиз арил-сульфатазой *H. Pomatia*, для чего 1 мл образца мочи инкубировали с данным ферментом в ацетатном буферном растворе (рН 5) в течение 2 ч при 50 °С с последующим анализом образца.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Использование комплексного подхода позволило установить, что ибутаморен подвержен метаболизму по двум фазам.

Анализ разбавленного образца мочи показал, что нативное соединение можно определить спустя практически двое суток (43 ч) в моче с момента его однократного употребления с применением данного подхода, при этом глюкуронид или сульфат ибутаморена не образуются.

В образцах разбавленной мочи присутствовали соединения с m/z 439.2010, что предположительно соответствует отщеплению бензильного фрагмента (29 ч), m/z 455.1959 (отщепление бензильного фрагмента и гидроксирование, 5 ч), m/z 544.2356 (гидроксирование, 29 ч), m/z 561.2377 (дигидроксирование, 10 ч) (рис. 1). Для двух метаболитов ибутаморена, предположительно моно- и дигидроксированного, происходило частичное образование глюкуронидов (рис. 2). В то же время образование сульфатированных конъюгатов не наблюдали на хроматограмме.

Методика с ферментативным гидролизом и жидкостно-жидкостной экстракцией диэтиловым эфиром позволила детектировать приведенные ранее метаболиты первой фазы, а также предположительно тригидроксированный метаболит с m/z 577.2323. Поскольку одним из этапов пробоподготовки является жидкостно-жидкостная экстракция с целью концентрирования аналитов, возможность обнаружения соединений увеличивается по сравнению с анализом разбавленного образца (см. табл. 2).

В анализируемых образцах мочи, полученных после ферментативного гидролиза и жидкостно-жидкостной экстракции, наиболее высокую концентрацию нативного соединения наблюдали в первом образце, полученном спустя 1.7 ч после

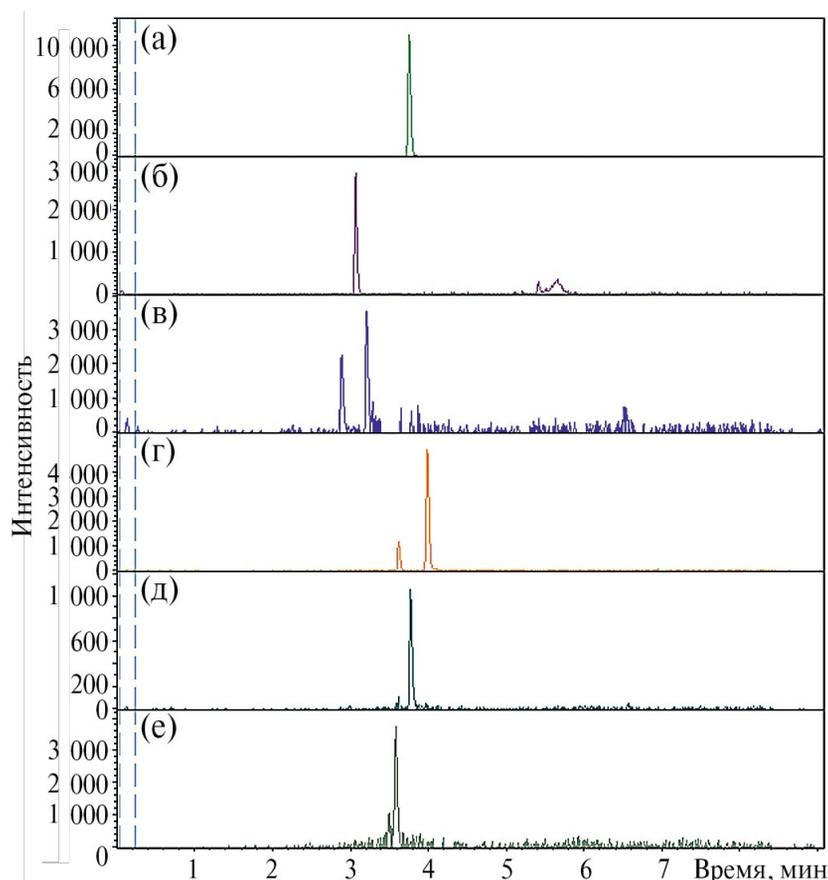


Рис. 1. Хроматограмма по выделенным ионам образца мочи после употребления ибутаморена. m/z : (а) 529.2479, (б) 439.2010, (в) 455.1959, (г) 545.2428, (д) 561.2377, (е) 577.2323.

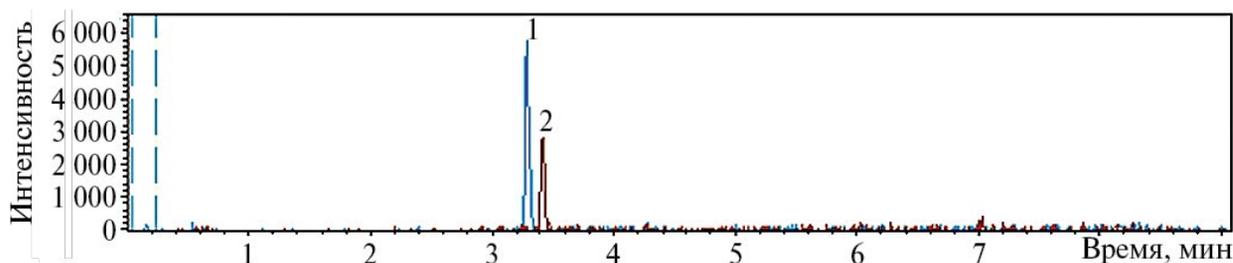


Рис. 2. Хроматограмма по выделенным ионам разбавленного образца мочи после употребления ибутаморена. m/z : 1 – 721.2749, 2 – 737.2698.

употребления вещества, затем она уменьшалась вплоть до 70 ч по экспоненциальной зависимости. Что касается предположительно гидроксированного метаболита, имеющего время удерживания 3.6 мин, его максимальное содержание наблюдали во втором образце, полученном спустя 5.5 ч после употребления препарата, после чего его содержание в образцах уменьшалось в течение 88.5 ч.

Полученные результаты согласуются с данными Соболевского и соавт. [20], однако в настоящем исследовании не удалось детектировать метаболиты, соответствующие отщеплению

2-метил-2-аминопропильного фрагмента, в то время как обнаружено соединение, предположительно соответствующее процессу тригидроксилирования.

* * *

Таким образом, установлено, что для выявления присутствия ибутаморена в организме человека наиболее перспективно детектирование гидроксированного метаболита в моче. Следует отметить, что проведение количественного анализа ограничено отсутствием стандартных образцов метаболитов. В этом случае возможно определение

Таблица 2. Предполагаемые пути метаболизма ибутаморена в моче человека

Соединение	Предполагаемый путь метаболизма	Молекулярная формула	Моноизотопная масса, Да	[M+H] ⁺ , m/z	t _R , мин	Временной диапазон обнаружения, ч	
						разбавление	гидролиз и ЖЖЭ
МК-677	Нативное соединение	C ₂₇ H ₃₆ N ₄ O ₅ S	528.2406	529.2479	3.8	43	70
M1	Отщепление бензильного фрагмента	C ₂₀ H ₃₀ N ₄ O ₅ S	438.1937	439.2010	3.1	29	23
M2	Отщепление бензильного фрагмента и гидроксильное	C ₂₀ H ₃₀ N ₄ O ₆ S	454.1886	455.1959	2.9, 3.2	5	5
M3	Гидроксильное	C ₂₇ H ₃₆ N ₄ O ₆ S	544.2356	545.2428	3.6, 4.0	29	94
M4	Дигидроксильное	C ₂₇ H ₃₆ N ₄ O ₇ S	560.2305	561.2377	3.8	10	35
M5	Тригидроксильное	C ₂₇ H ₃₆ N ₄ O ₈ S	576.2254	577.2323	3.5	—	5
M6	Гидроксильное и глюкуронидация	C ₃₃ H ₄₄ N ₄ O ₁₂ S	720.2676	721.2749	3.3	23	—
M7	Дигидроксильное и глюкуронидация	C ₃₃ H ₄₄ N ₄ O ₁₃ S	736.2626	737.2698	3.4	5	—

соединения в нативной форме, особенно при проведении скрининговых исследований.

Исследования проводили в рамках выполнения Госзадания Минобрнауки РФ № FZEN-2023-0006 с использованием научного оборудования ЦКП “Эколого-аналитический центр” Кубанского государственного университета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Sigalos J.T., Pastuszak A.W.* The safety and efficacy of growth hormone secretagogues // *Sex. Med. Rev.* 2018. V. 6. № 1. P. 45.
<https://doi.org/10.1016/j.sxmr.2017.02.004>
2. *Patchett A.A., Nargund R.P., Tata J.R., Chen M.H., Barakat K.J., Johnston D.B., Cheng K., Chan W.W., Butler B., Hickey G.* Design and biological activities of L-163,191 (МК-0677): A potent, orally active growth hormone secretagogue // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. V. 92. № 15. P. 7001.
<https://doi.org/10.1073/pnas.92.15.7001>
3. *Ishida J., Saitoh M., Ebner N., Springer J., Anker S.D., von Haehling S.* Growth hormone secretagogues: History, mechanism of action, and clinical development // *JCSM Rapid Commun.* 2020. V. 3. № 1. P. 25.
<https://doi.org/10.1002/rco2.9>
4. *Copinschi G., Van Onderbergen A., L'Hermite-Balériaux M., Mendel C.M., Caufriez A., Leproult R., Bolognese J.A., De Smet M., Thorner M.O., Van Cauwter E.* Effects of a 7-day treatment with a novel, orally active, growth hormone (GH) secretagogue, МК-677, on 24-hour GH profiles, insulin-like growth factor I, and adrenocortical function in normal young men // *J. Clin. Endocrinol Metab.* 1996. V. 81. № 8. P. 2776.
<https://doi.org/10.1210/jcem.81.8.8768828>
5. *Svensson J., Lönn L., Jansson J.O., Murphy G., Wyss D., Krupa D., Cerchio K., Polvino W., Gertz B., Boseaus I., Sjöström L., Bengtsson B.A.* Two-month treatment of obese subjects with the oral growth hormone (GH) secretagogue МК-677 increases GH secretion, fat-free mass, and energy expenditure // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1998. V. 83. № 2. P. 362.
<https://doi.org/10.1210/jcem.83.2.4539>
6. *Murphy M.G., Bach M.A., Plotkin D., Bolognese J., Ng J., Krupa D., Cerchio K., Gertz B.J.* Oral administration of the growth hormone secretagogue МК-677 increases markers of bone turnover in healthy and functionally impaired elderly adults // *J. Bone Miner. Res.* 1999. V. 14. № 7. P. 1182.
<https://doi.org/10.1359/jbmr.1999.14.7.1182>
7. *Nass R., Pezzoli S.S., Oliveri M.C., Patrie J.T., Harrell Jr F.E., Clasey J.L., Heymsfield S.B., Bach M.A., Vance M.L., Thorner M.O.* Effects of an oral ghrelin mimetic on body composition and clinical outcomes in healthy older adults: A randomized trial (trials) // *Ann. Int. Med.* 2008. V. 149. № 9. P. 601.
<https://doi.org/10.7326/0003-4819-149-9-200811040-00003>
8. *Adunsky A., Chandler J., Heyden N., Lutkiewicz J., Scott B.B., Berd Y., Liu N., Papanicolaou D.A.* МК-0677 (ibutamoren mesylate) for the treatment of patients recovering from hip fracture: A multicenter, randomized, placebo-controlled phase IIb study // *Arch. Gerontol. Geriatr.* 2011. V. 53. № 2. P. 183.
<https://doi.org/10.1016/j.archger.2010.10.004>
9. World Anti-Doping Agency. World Anti-Doping Code. The 2021 Prohibited List. https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/2021list_en.pdf (2021) (31.01.2023).
10. *Baumann G.P.* Growth hormone doping in sports: A critical review of use and detection strategies // *Endocr. Rev.* 2012. V. 33. № 2. P. 155.
<https://doi.org/10.1210/er.2011-1035>
11. *Constanzer M.L., Chavez-Eng C.M., Matuszewski B.K.* Determination of a novel growth hormone secretagogue (МК-677) in human plasma at picogram levels by liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.* 1997. V. 693. № 1. P. 131.
[https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(97\)00035-2](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(97)00035-2)
12. *Дмитриева Е.В., Темердашев А.З., Азарян А.А., Гашимова Э.М.* Определение андарина (S-4), селективного модулятора андрогенных рецепторов, и ибутаморена (МК-677), непептидного секретаргога гормона роста, в моче ультравысокоэффективной жидкостной хроматографией с tandemным масс-спектрометрическим детектированием // *Журн. аналит. химии.* 2018. Т. 73. № 7. С. 523. (*Dmitrieva E.V., Temerdashev A.Z., Azaryan A.A., Gashimova E.M.* Determination of andarine (S-4), a selective androgen receptor modulator, and ibutamoren (МК-677), a nonpeptide growth hormone secretagogue, in urine by ultra-high performance liquid chromatography with tandem mass-spectrometric detection // *J. Anal. Chem.* 2018. V. 73. № 7. P. 674.
<https://doi.org/10.1134/S1061934818070031>)
13. *Дмитриева Е.В., Темердашев А.З., Азарян А.А., Гашимова Э.М.* Использование твердофазной экстракции для определения используемых в спорте лекарственных средств в моче человека методом УВЭЖХ–МС/МС // *Аналитика и контроль.* 2018. Т. 22. № 3. С. 236.
<https://doi.org/10.15826/analitika.2018.22.3.008>
14. *Cuervo D., Loli C., Fernández-Álvarez M., Muñoz G., Carreras D.* Determination of doping peptides via solid-phase microelution and accurate mass quadrupole time-of-flight LC–MS // *J. Chromatogr. B: Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2017. V. 1065–1066. P. 134.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.08.044>
15. *Sobolevsky T., Krotov G., Dikunets M., Nikitina M., Mochalova E., Rodchenkov G.* Anti-doping analyses at the Sochi Olympic and Paralympic Games 2014 // *Drug Test. Anal.* 2014. V. 6. № 11–12. P. 1087.
<https://doi.org/10.1002/dta.1734>

16. *Cutler C., Viljanto M., Taylor P., Habershon-Butcher J., Van Eenoo P.* Equine metabolism of the growth hormone secretagogue MK-0677 in vitro and in urine and plasma following oral administration // *Drug Test. Anal.* 2022. V. 14. № 7. P. 1273. <https://doi.org/10.1002/dta.3252>
17. *Темердашев А.З., Дмитриева Е.В.* Методы определения селективных модуляторов андрогенных рецепторов // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. № 7. С. 579. (*Temerdashev A.Z., Dmitrieva E.V.* Methods for the determination of selective androgen receptor modulators // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. № 7. P. 835. <https://doi.org/10.1134/S1061934820070187>)
18. *Viette V., Fathi M., Rudaz S., Hochstrasser D., Veuthy J.-L.* Current role of liquid chromatography coupled to mass spectrometry in clinical toxicology screening methods // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2011. V. 49. № 7. P. 1091. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2011.182>
19. *Chapman I.M., Bach M.A., Van Cauter E., Farmer M., Krupa D., Taylor A.M., Schilling L.M., Cole K.Y., Skiles E.H., Pezzoli S.S., Hartman M.L., Veldhuis J.D., Gormley G.J., Thorner M.O.* Stimulation of the growth hormone (GH)-insulin-like growth factor I axis by daily oral administration of a GH secretagogue (MK-677) in healthy elderly subjects // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1996. V. 81. № 12. P. 4249. <https://doi.org/10.1210/jcem.81.12.8954023>
20. *Sobolevsky T., Prasolov I., Rodchenkov G.* Urinary metabolism of ibutamoren, a small molecule growth hormone secretagogue / Recent advances in doping analysis (21): Proceedings of the Manfred-Donike-Workshop; 31th Cologne Workshop on Dope Analysis. Köln: Sportverl. Strauß (Verlag), 2013. P. 182.

УДК 543.545

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ УГЛЕВОДОВ В ОБЪЕКТАХ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ МЕТОДОМ КОСВЕННОГО ДЕТЕКТИРОВАНИЯ

© 2024 г. Е. А. Колобова^{a, b}, А. В. Малюшевская^{a,*}, Л. А. Карцова^a

^a Санкт-Петербургский государственный университет

Университетский просп., 26, Петродворец, Санкт-Петербург, 198504, Россия

^b Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России

ул. Академика Лебедева, 4/2, Санкт-Петербург, 194044, Россия

* E-mail: malushevskaa@gmail.com

Поступила в редакцию 15.04.2023 г.

После доработки 26.04.2023 г.

Принята к публикации 27.04.2023 г.

Предложены варианты электрофоретического определения нейтральных углеводов методом косвенного детектирования с использованием в качестве поглощающих добавок (ПД) акридонуксусной и фолиевой кислот. Изучено влияние природы и концентрации ПД, щелочи, а также различных модификаторов (цетилтриметиламмоний бромид, ЦТАБ) и ионных жидкостей (1-додецил-3-метилимидазолий хлорида и 1-гексадецил-3-метилимидазолий хлорида) на электрофоретические параметры миграции аналитов. Наименьшие значения пределов обнаружения углеводов достигнуты в фоновом электролите, содержащем 2.5 мМ акридонуксусной кислоты, 75 мМ КОН, 0.5 мМ ЦТАБ, 5 об. % MeOH, и составили 4–10 мкг/мл при эффективности до 350 тыс. т.т. В найденных условиях проведен анализ образцов гречишного меда и плазмы крови человека. Установлено, что при анализе продуктов питания предпочтительнее использовать в качестве ПД фолиевую кислоту, поскольку она обеспечивает наибольшую селективность разделения углеводов: для пары сукралоза–сахароза фактор разрешения составляет 7.6.

Ключевые слова: капиллярный электрофорез, углеводы, косвенное детектирование, поглощающие добавки.

DOI: 10.31857/S0044450224020064, **EDN:** vuyusy

Углеводы – класс биомолекул, играющий важную роль в жизнедеятельности живых организмов. Определение углеводов в биологических объектах может иметь как медико-диагностическое значение [1], так и быть этапом контроля качества в случае анализа продуктов питания [2]. Среди методов исследования углеводного состава наиболее востребованы хроматографические [3, 4] и электрофоретические [4]. Последние отличаются высокой эффективностью и широкими возможностями управления селективностью разделения аналитов за счет изменения состава фонового электролита. Однако высокие значения pH, необходимые для ионизации и обеспечения электрофоретической подвижности углеводов, а также отсутствие в их молекулах хромофорных групп представляют серьезные проблемы при электрофоретическом определении этих аналитов.

Существуют различные подходы к определению нейтральных углеводов методом капиллярного электрофореза: прямое детектирование ионизированных углеводов [5], определение их комплексов с ионами металлов [6], использование различных видов пред- [7] или внутрикапиллярной дериватизации [8]. Наряду с прямым востребовано косвенное детектирование, при котором в фоновый электролит (ФЭ) вводятся поглощающие добавки, раствор щелочи, обеспечивающий ионизацию сахаров, и в ряде случаев поверхностно-активное вещество (ПАВ) для обращения и изменения электроосмотического потока (ЭОП). С этой целью используют как традиционные катионные ПАВ, например цетилтриметиламмоний бромид (ЦТАБ) [9], так и имидазолиевые ионные жидкости (ИЖ), способные выполнять роль поглощающей добавки и модификатора ЭОП [10].

Определение углеводов в режиме косвенного детектирования применяли в анализе биологических объектов [9] и различных пищевых продуктов [11, 12] с варьированием природы поглощающей добавки: бензойная [13, 14], дипиколиновая [9] сорбиновая кислоты [15], триптофан [16], глицил-глицин [17]. Тем не менее поиск новых агентов для реализации косвенного детектирования и условий селективного электрофоретического разделения определяемых углеводов с их участием по-прежнему актуален.

Данная работа посвящена выявлению аналитических возможностей новых поглощающих добавок для обнаружения углеводов и изучению влияния состава фонового электролита на электрофоретические параметры миграции аналитов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оборудование. Прибор для капиллярного электрофореза КАПЕЛЬ®-105М (Люмэкс®, Россия) со спектрофотометрическим детектированием (дейтериевая лампа; спектральный диапазон от 190 до 380 нм) с возможностью гидродинамического и электрокинетического ввода пробы. Кварцевый капилляр общей длиной 60 см и эффективной 50 см внутренним диаметром 50 мкм и внешним полиимидным покрытием. Результаты электрофоретических экспериментов обрабатывали с использованием программного обеспечения “Эльфوران” (Люмэкс, Россия).

Дополнительное оборудование. Аналитические весы Shimadzu AUW (Shimadzu, Япония), деионизатор АКВИЛОН Д 301 (Аквилон, Россия), рН-метр HI 2210–2216 (Hanna, Италия), ультразвуковая ванна Branson 1510 (Branson Ultrasonics Corporation, США). Автоматические дозаторы емк. 20, 200, 1 000 мкл.

Реагенты. Гидроксид натрия ч. д. а. (Реахим, Россия), гидроксид калия ч. д. а. (Реахим, Россия), соляная кислота ч., борная кислота ос. ч. (Реахим, Россия), цетилтриметиламмоний бромид х. ч. (Sigma-Aldrich, США) 1-додецил-3-метилимидазолий хлорид ($C_{12}MImCl$) х. ч. (ABC R, Германия), 1-гексадецил-3-метилимидазолий хлорид ($C_{16}MImCl$) х. ч. (Arcos, США), метанол (Fluka, США), ацетонитрил (Sigma-Aldrich, США), акридонуксусная кислота (АУК) х. ч. (Sigma-Aldrich, США), фолиевая кислота х. ч. (J&K, США), никотиновая кислота х. ч. (J&K, США), аминосалициловая кислота х. ч. (Sigma-Aldrich, США), бензойная кислота х. ч. (Sigma-Aldrich, США), микофеноловая кислота х. ч. (Sigma-Aldrich, США), глюкоза х. ч. (PanReac,

Испания), фруктоза х. ч. (PanReac, Испания), сахароза х. ч. (PanReac, Испания), мальтоза х. ч. (Sigma-Aldrich, США), лактоза х. ч. (Sigma-Aldrich, США), лактулоза х. ч. (Sigma-Aldrich, США), сукралоза х.ч. (Sigma-Aldrich, США), маннитол х. ч. (Sigma-Aldrich, США).

Во всех экспериментах использовали деионизованную воду, которую получали из дистиллированной воды с использованием деионизатора АКВИЛОН Д 301 (Аквилон, Россия).

Объекты анализа. Образцы гречишного меда, нектар апельсиновый, образцы детского питания различных производителей. Образцы плазмы крови, предоставленные ФГБУ “Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова” МЧС России.

Приготовление растворов. Растворы поглощающих добавок (20 мМ акридонуксусная, никотиновая, бензойная, фолиевая, микофеноловая, 4-аминосалициловая кислоты) готовили следующим образом: точные навески кислот вносили в пластиковые пробирки типа Эппендорф емк. 4 мл, добавляли 0.4 мл раствора щелочи (1 М раствор КОН или NaOH), тщательно перемешивали до полного растворения кислоты и доводили объем раствора водой до метки. Концентрированные растворы углеводов (глюкоза, фруктоза, сахароза, лактоза, мальтоза, лактулоза, сукралоза и маннитол) с концентрацией 10 мг/мл готовили следующим образом: точные навески аналитов вносили в пробирку типа Эппендорф емк. 1.5 мл, добавляли 0.5 мл воды, тщательно перемешивали до полного растворения и доводили объем раствора водой до 1 мл. Подготовленные растворы хранили в морозильной камере при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Рабочие и градуировочные растворы углеводов заданной концентрации готовили путем разбавления концентрированных растворов в требуемое количество раз водой. Рабочие растворы хранили в холодильнике при $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение недели.

Приготовление фоновых электролитов. При определении электрофоретической подвижности поглощающих добавок использовали 10 мМ боратный буферный раствор (рН 9.3), приготовленный следующим образом: в мерную колбу емк. 100 мл вносили 3 мл 0.3 М боратного буферного раствора, добавляли 90 мл воды, тщательно перемешивали и доводили до метки водой. Электрофоретическую подвижность поглощающих добавок определяли по формуле:

$$\mu_{\text{аналита}} = \mu_{\text{набл}} - \mu_{\text{ЭОП}} = \frac{L_{\text{эфф}} L_{\text{общ}}}{U t_{\text{мигр}}} - \frac{L_{\text{эфф}} L_{\text{общ}}}{U t_{\text{ЭОП}}}$$

где $\mu_{\text{аналита}}$ — электрофоретическая подвижность аналита, $\text{см}^2/\text{В}\cdot\text{с}$; $\mu_{\text{набл}}$ — наблюдаемая электрофоретическая подвижность, $\text{см}^2/\text{В}$; $\mu_{\text{эоп}}$ — электрофоретическая подвижность ЭОП (маркер — диметилсульфоксид), $\text{см}^2/\text{В}\cdot\text{с}$; $L_{\text{общ}}$ — общая длина капилляра от входного до выходного конца, см; $L_{\text{эфф}}$ — эффективная длина капилляра от входного конца до зоны детектирования, см; U — величина рабочего напряжения, В; $t_{\text{мигр}}$ — время миграции компонента, с.

При исследовании влияния состава фонового электролита на параметры миграции углеводов концентрацию поглощающих добавок варьировали в диапазоне 0.5–10 мМ, щелочи (NaOH или KOH) 50–150 мМ; ЦТАБ и ИЖ $\text{C}_{16}\text{MImCl}$ — в диапазоне 0–5 мМ, а ИЖ $\text{C}_{12}\text{MImCl}$ — 0–15 мМ. Для изучения влияния органических растворителей на гидрофобно-гидрофильный баланс использовали ацетонитрил или метанол в концентрации 0–5 об. %.

Молярные коэффициенты поглощения применяемых добавок при наблюдаемых длинах волн определяли с использованием спектрофотометра UV 1800 (Shimadzu, Япония). Регистрировали абсорбцию 20 мкМ растворов поглощающих добавок в кювете толщиной 1 см.

Молярный коэффициент поглощения рассчитывали по известной формуле $\epsilon = A/(lc)$, где ϵ — молярный коэффициент поглощения вещества, $\text{М}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$; A — светопоглощение раствора вещества; l — длина оптического пути, см; c — концентрация вещества, М.

Пробоподготовка. Образцы мёда. В мерную колбу емк. 10 мл вносили навеску ($m = 0.1$ г) образца мёда, добавляли 8 мл воды. Раствор тщательно перемешивали до полного растворения образца, доводили раствор до метки водой и снова тщательно перемешивали. Затем в пробирку типа Эппендорф емк. 1.5 мл отбирали 1.0 мл полученного раствора, центрифугировали в течение 10 мин при 10 000 об/мин (6 800g), отбирали 0.8 мл и переносили в пробирку типа Эппендорф.

Образцы сока. Апельсиновый сок с мякотью тщательно перемешивали в упаковке. В пробирку типа Эппендорф емк. 1.5 мл отбирали около 1 мл сока, центрифугировали в течение 10 мин при 10 000 об/мин (6 800 g). Затем с помощью дозатора отбирали 1 мл надосадочного слоя и переносили в мерную колбу емк. 100 мл, добавляли 95 мл воды, тщательно перемешивали и доводили раствор до метки.

Образцы плазмы крови размораживали при комнатной температуре, затем тщательно перемешивали. Далее в пробирку типа Эппендорф емк. 1.5 мл

отбирали 0.2 мл плазмы, добавляли 0.2 мл метанола. Содержимое пробирок тщательно перемешивали с помощью перемешивающего устройства типа Vortex в течение 5 мин, после чего центрифугировали 10 мин со скоростью 10 000 об/мин (6800g); 0.2 мл надосадочного слоя переносили в чистую пробирку, центрифугировали 5 мин со скоростью 10 000 об /мин (6 800 g). Затем 0.175 мл надосадочного слоя переносили в чистую пробирку.

Образцы детского питания. Навески образцов массой примерно 40 мг вносили в пробирки типа Эппендорф емк. 1.5 мл. Затем добавляли по 1 мл воды и центрифугировали в течение 5 мин при 10 000 об /мин (6 800 g). Надосадочную жидкость отбирали автоматической пипеткой и разбавляли водой в требуемое количество раз.

Условия электрофоретических экспериментов. Подготовка капилляра к работе. Новый кварцевый капилляр последовательно промывали ацетонитрилом (10 мин), водой (10 мин), 0.1 М HCl (10 мин), водой (5 мин), 0.5 М раствором NaOH (30 мин) и снова водой (10 мин). Перед началом работы каждый день капилляр промывали ацетонитрилом (1 мин), водой (3 мин), 0.1 М HCl (1 мин), водой (3 мин), 0.1 М раствором NaOH (1 мин), водой (3 мин). Между анализами осуществляли последовательную промывку ацетонитрилом (1 мин), водой (3 мин) и фоновым электролитом (5 мин).

Анализ объектов. Анализ образцов мёда и плазмы крови человека проводили с использованием фонового электролита следующего состава: 2.5 мМ акридонуксусная кислота (поглощающая добавка), 75 мМ KOH, 0.5 мМ ЦТАБ, 5 об. % метанола. Напряжение —20 кВ; температура термостатирования 20 °С; длина волны детектирования 240 нм; время гидродинамического ввода пробы 5 с; давление ввода пробы 30 мбар.

Для анализа образцов детского питания применяли фоновый электролит, включающий 2.5 мМ фолиевой кислоты (поглощающая добавка), 75 мМ KOH, 0.5 мМ ЦТАБ, 5 об. % метанола. Напряжение —20 кВ; температура термостатирования 20 °С; длина волны детектирования 238 нм; время гидродинамического ввода пробы 5 с; давление ввода пробы 30 мбар.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка способа электрофоретического определения углеводов в условиях косвенного детектирования включала: 1) выбор поглощающей добавки; 2) изучение влияния состава фонового

электролита на параметры миграции нейтральных углеводов; 3) апробацию выбранных условий на модельных системах углеводов при анализе объектов природного происхождения.

Выбор поглощающей добавки. Анализ литературы показал, что поглощающая добавка должна обладать высоким коэффициентом поглощения и стабильностью, растворяться в фоновом электролите; ее электрофоретическая подвижность (ЭФП) должна быть сопоставима с подвижностью аналитов [18, 19]. Основываясь на этих данных, для тестовых экспериментов выбрали акридонуксусную, никотиновую, бензойную, фолиевую, микофеноловую, 4-аминосалициловую кислоты.

В серии предварительных электрофоретических экспериментов определили ЭФП каждой поглощающей добавки и изучили влияние ее природы на электрофоретические параметры миграции углеводов при постоянном составе ФЭ.

Электрофореграммы модельной смеси углеводов, полученные с различными поглощающими добавками в составе ФЭ, представлены на рис. 1, а соответствующие результаты обобщены в табл. 1. Как видно, наименьшим значением ЭФП обладает акридонуксусная кислота. Предположили, что в фоновом электролите, содержащем эту добавку,

эффективность для углеводов будет максимальной. Однако электрофоретические эксперименты показали, что наибольшая эффективность достигается для бензойной кислоты (160–410 тыс. т.т.), что может быть обусловлено зависимостью интенсивности сигналов аналитов от коэффициента поглощения поглощающей добавки при используемой длине волны. В случае АУК интенсивность аналитического сигнала значительно выше, чем для других поглощающих добавок, что является причиной размывания электрофоретических сигналов. При этом рассчитанные пределы обнаружения по сравнению с другими ПД минимальны. При разбавлении пробы в пять раз (концентрация аналитов 50 мкг/мл) достигнутое значение эффективности для углеводов лежит в диапазоне 150–450 тыс. т.т. Таким образом, акридонуксусную кислоту выбрали в качестве поглощающей добавки в дальнейших экспериментах.

Влияние состава фонового электролита. Изучали влияние концентрации и природы компонентов фонового электролита на параметры миграции углеводов. Фоновый электролит включал поглощающую добавку (АУК), модификатор ЭОПа для контроля его скорости и направления, а также щелочь для ионизации нейтральных углеводов.

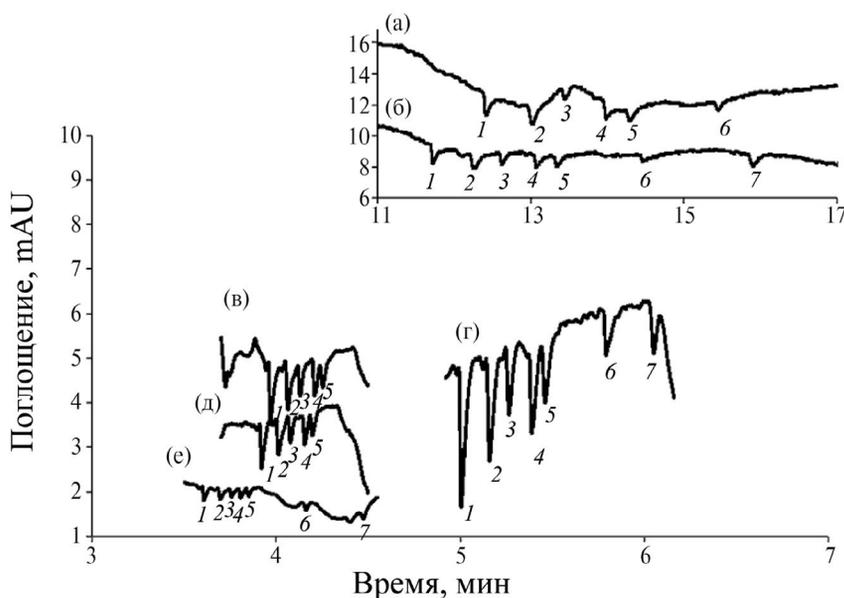


Рис. 1. Электрофореграммы модельной смеси нейтральных углеводов. Условия: система капиллярного электрофореза Капель-105М; капилляр 60×50 см, 50 мкм; фоновый электролит: 75 мМ NaOH, 0.5 мМ цетилтриметиламмоний бромид, 2.5 мМ поглощающая добавка: (а) микофеноловая кислота; (б) фолиевая кислота; (в) 4-аминосалициловая кислота; (г) акридонуксусная кислота; (д) бензойная кислота; (е) никотиновая кислота. $U = -20$ кВ, 20 °С. Длина волны при максимальном поглощении (см. табл. 1), ввод пробы: 2с × 30 мбар. Аналиты: модельный раствор углеводов (250 мкг/мл) 1 – фруктоза, 2 – глюкоза, 3 – мальтоза, 4 – лактулоза, 5 – лактоза, 6 – сукралоза, 7 – сахароза.

Таблица 1. Эффективность и пределы обнаружения углеводов, полученные в фоновом электролите с различными поглощающими добавками

Поглощающая добавка ($\mu \times 10^5$, $\text{м}^2/\text{В}\cdot\text{с}$; ϵ_{max} , $\text{М}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$)	N, тыс. т.т.	Предел обнаружения, мкг/мл
Акридонуксусная кислота (2.41; $\epsilon_{240} = 18\ 700$)	110–285	10–40
Аминосалициловая кислота (3.11; $\epsilon_{241} = 8\ 800$)	150–340	35–150
Никотиновая кислота (3.16; $\epsilon_{242} = 2\ 400$)	120–345	80–190
Бензойная кислота (3.16; $\epsilon_{240} = 3\ 125$)	160–410	30–160
Микофеноловая кислота (3.28; $\epsilon_{230} = 31\ 400$)	75–165	50–115
Фолиевая кислота (3.77; $\epsilon_{238} = 14\ 300$)	60–110	35–100

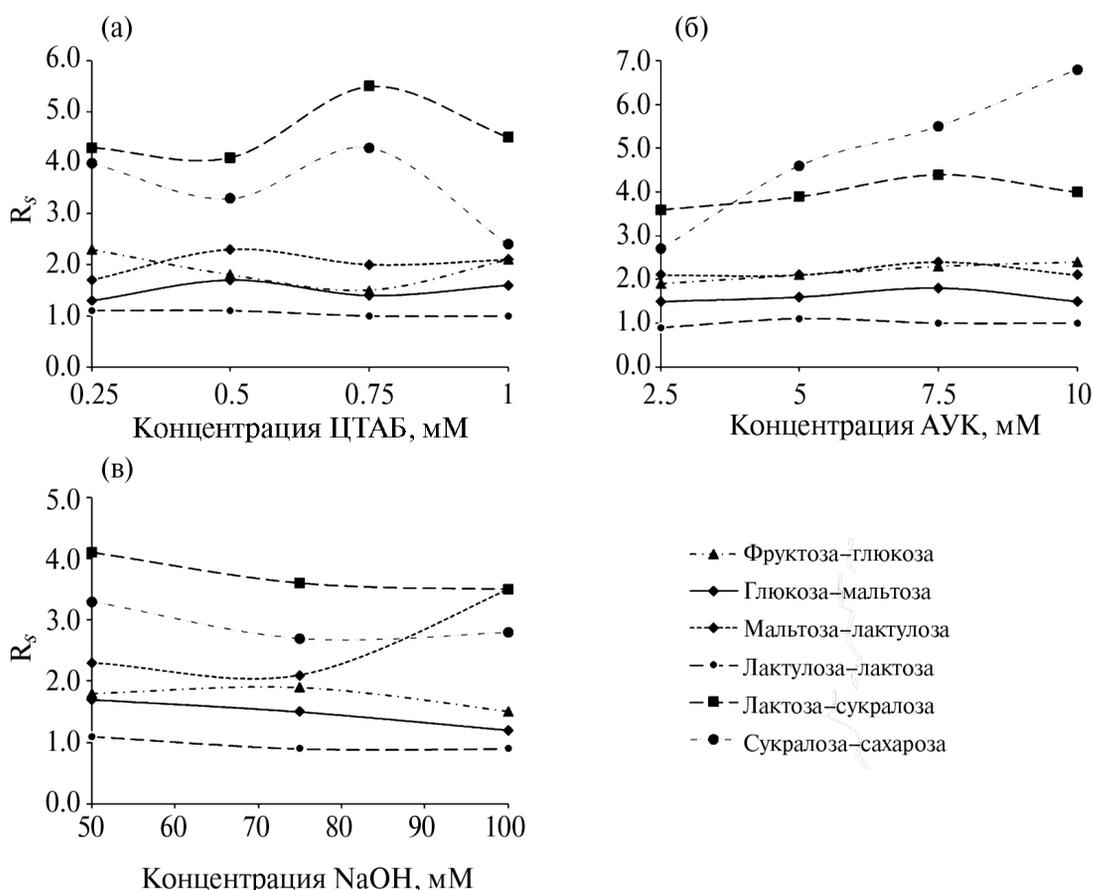


Рис. 2. Зависимости факторов разрешения от состава фонового электролита. Условия: ФЭ: а) 2.5 мМ АУК, 75 мМ NaOH, 0.25–1.0 мМ ЦТАБ; б) 0–10 мМ АУК, 75 мМ NaOH, 0.5 мМ ЦТАБ; в) 2.5 мМ АУК, 50–100 мМ NaOH, 0.5 мМ ЦТАБ; $\lambda=240$ нм, ввод пробы: $2\text{с} \times 30$ мбар, $U = -20$ кВ, $T = 20$ °С.

Влияние концентрации поглощающей добавки на эффективность и селективность разделения анализов изучали в диапазоне 1–10 мМ. На рис. 2а представлена зависимость фактора разрешения (R_s) от концентрации акридонуксусной кислоты в ФЭ. При концентрации ниже 1.5 мМ обнаружение анализов затруднено. Кроме того, АУК может

образовывать с ЦТАБ ионную пару, что влияет на скорость ЭОП: при увеличении концентрации АУК снижается скорость ЭОПа, и увеличиваются времена миграции анализов. При этом наблюдается рост селективности разделения нейтральных углеводов без потери эффективности. В наибольшей степени это проявилось для пары сукралоза–сахароза,

и значение фактора разрешения при концентрации АУК 10 мМ оказалось в два раза выше, чем при концентрации 2.5 мМ. Однако наименьшие значения пределов обнаружения (10–40 нг/мл) достигались именно при концентрации АУК 2.5 мМ; при ее повышении увеличивается и шум базовой линии.

Влияние концентрации щелочи. Для ионизации нейтральных углеводов необходимы высокие значения рН фонового электролита. Факторы разрешения углеводов незначительно снижаются при повышении концентрации щелочи в фоновом электролите в диапазоне 50–150 мМ (рис. 2б), а величина тока при этом и дрейф базовой линии возрастают. При концентрации NaOH 50 мМ пределы обнаружения аналитов составили 20–65 мкг/мл, что оказалось выше, чем в случае 75 мМ раствора NaOH. Замена NaOH на KOH в той же концентрации позволила повысить эффективность до 350 тыс. т.т. и снизить пределы обнаружения до 5–20 мкг/мл, в том числе и за счет уменьшения дрейфа базовой линии.

Влияние цетилтриметиламмоний бромида. Катионное ПАВ ЦТАБ при концентрации в растворе выше критической концентрации мицеллообразования (ККМ) образует мицеллы с формированием псевдостационарной фазы. Влияние ЦТАБ на параметры миграции углеводов исследовали в диапазоне концентраций 0.25–5.0 мМ (рис. 2в). При различной концентрации ЦТАБ в составе фонового электролита могут реализоваться два режима разделения аналитов: зонный – до достижения ККМ и мицеллярный – выше ККМ (0.9 мМ)

[20]. При концентрации ЦТАБ выше 1 мМ ЭОП замедляется, происходит резкое снижение интенсивности сигналов, что объясняется, скорее всего, конкуренцией углеводов и АУК за полость мицелл. В результате увеличивается селективность разделения, но возрастают пределы обнаружения: при 5 мМ ЦТАБ они составляют 50–140 мкг/мл. В режиме капиллярного зонного электрофореза наибольшие значения факторов разрешения с наименьшими пределами обнаружения достигнуты в фоновом электролите, содержащем 0.5 мМ ЦТАБ.

Влияние ионных жидкостей $C_{12}MImCl$ и $C_{16}MImCl$ на факторы разрешения углеводов. В качестве модификаторов ЭОП могут выступать ИЖ на основе имидазолия с длинным углеводородным радикалом [21]. Для исследования выбрали $C_{12}MImCl$ (ККМ = 7–15 мМ [22]) и $C_{16}MImCl$ (ККМ = 1.1 мМ [23]). Наибольшие значения факторов разрешения нейтральных углеводов наблюдаются при использовании ФЭ, содержащего $C_{12}MImCl$ (1 мМ) (рис. 3). Это объясняется тем, что $C_{12}MImCl$ слабее модифицирует стенки кварцевого капилляра, поэтому ЭОП в данном случае медленный, что приводит к росту селективности разделения аналитов. Пределы обнаружения составили 20–90 мкг/мл. В случае модификаторов с близкими значениями ККМ – ЦТАБ и $C_{16}MImCl$ – получили аналогичные результаты, однако пределы обнаружения аналитов для ЦТАБ оказались ниже (табл. 2).

Имидазолиевые ИЖ за счет наличия хромофорного фрагмента могут выступать и в качестве поглощающих добавок. Поскольку $C_{16}MImCl$ обладает достаточно низкими значениями ККМ,

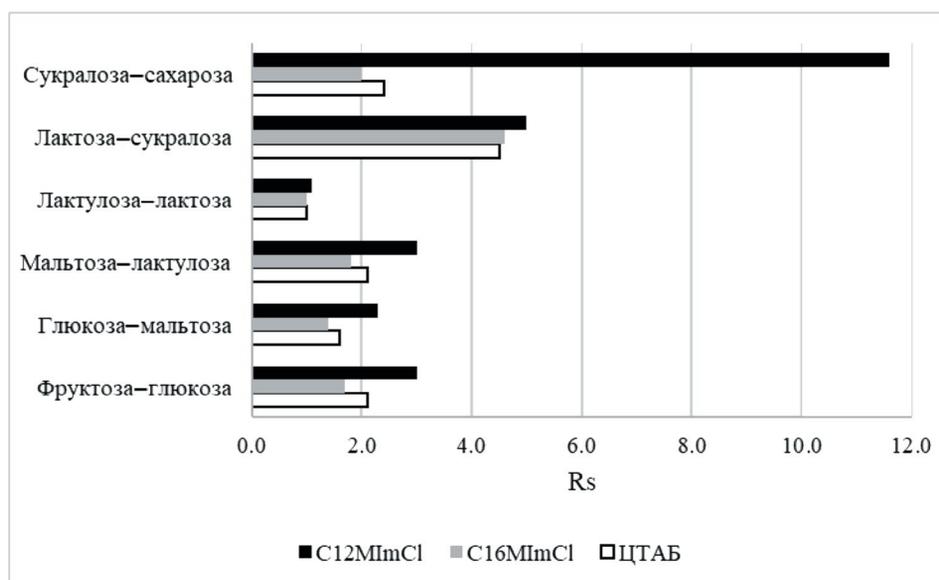


Рис. 3. Факторы разрешения (R_s) углеводов при использовании фоновых электролитов с различными модификаторами электроосмотического потока. Условия: фоновый электролит: 2.5 мМ акридонуксусная кислота, 75 мМ NaOH, 1 мМ модификатор. $\lambda = 240$ нм, ввод пробы: 2×30 мбар, $U = -20$ кВ, 20 °С

Таблица 2. Эффективность, факторы разрешения и пределы обнаружения (ПО) нейтральных углеводов при использовании цетилтриметиламмоний бромид и $C_{16}MImCl$ в качестве модификаторов электроосмотического потока

c, mM	ЦТАБ			$C_{16}MImCl$		
	N, тыс т.т.	R_s	ПО, мкг/мл	N, тыс т.т.	R_s	ПО, мкг/мл
0.25	160–205	1.1–4.3	15–55	30–80	0.8–3.2	45–150
0.50	160–390	1.1–5.5	10–40	20–80	0.9–3.5	50–170
1.00	110–270	1.0–4.5	5–25	165–335	1.1–4.8	10–45

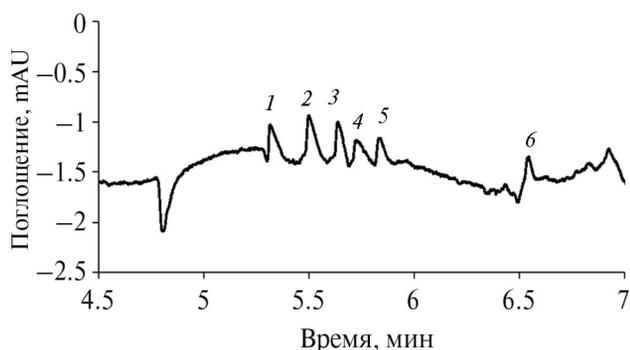


Рис. 4. Электрофореграммы смеси нейтральных углеводов с использованием в качестве поглощающей добавки $C_{12}MImCl$. Условия: Капель-105М; капилляр 60×50 см, 50 мкм; фоновый электролит: 75 mM NaOH, 10 Мм $C_{12}MImCl$. $U = -20$ кВ, 20 °С. $\lambda = 220$ нм, ввод пробы 5 × 30 мбар. Аналиты: 1 – фруктоза, 2 – глюкоза, 3 – мальтоза, 4 – лактулоза, 5 – лактоза, 6 – сукралоза.

а в режиме мицеллярной электрокинетической хроматографии происходит размывание пиков аналитов, то для этой цели использовали $C_{12}MImCl$. Установили, что $C_{12}MImCl$ не только обращает ЭОП, но и обеспечивает обнаружение углеводов в условиях косвенного детектирования (рис. 4). Эффективность составила 110–270 тыс.т.т., а пределы обнаружения – 60–115 мкг/мл.

Влияние гидрофобно-гидрофильного баланса на эффективность и пределы обнаружения углеводов. Электрофоретические параметры миграции аналитов в большой степени зависят от гидрофобно-гидрофильного баланса фонового электролита. Для изучения его влияния в состав ФЭ вводили метанол или ацетонитрил в концентрациях 0–10 об. %. Максимальную эффективность наблюдали при введении метанола в ФЭ (5 об. %), она составила 150–330 тыс. т.т., а достигнутые пределы обнаружения – 4–10 мкг/мл.

Таким образом, выбрали оптимальный состав фонового электролита при определении нейтральных углеводов в условиях косвенного

детектирования: 2.5 mM акридонуксусной кислоты, 75 mM KOH, 0.5 mM ЦТАБ, 5 об. % метанола.

Анализ объектов природного происхождения. Для определения сахаров в объектах природного происхождения использовали метод абсолютной градуировки. Для построения градуировочных кривых в случае ФЭ с акридонуксусной кислотой в качестве поглощающей добавки применяли тестовые растворы углеводов с концентрацией 250, 175, 100, 50, 25 мкг/мл (рис. 5).

Одним из наиболее подходящих объектов анализа для адаптации найденных на модельных системах условий определения моносахаридов в режиме косвенного детектирования является мед, основные компоненты которого – фруктоза и глюкоза. Пробоподготовка заключалась в растворении точной навески в воде с последующим центрифугированием и отбором верхнего слоя. Содержание фруктозы и глюкозы составило 46.6 и 34.2 мас. % соответственно.

Предложенный подход апробировали и при анализе образцов плазмы крови (рис. 6). Определение уровня глюкозы используют для диагностики и контроля сахарного диабета и других заболеваний, связанных с нарушением обмена углеводов. На стадии пробоподготовки необходимо избавиться от мешающего влияния белков,

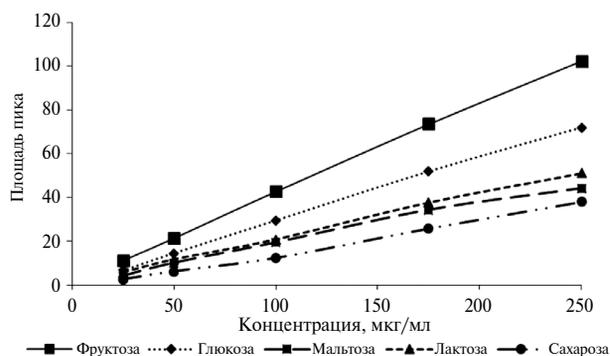


Рис. 5. Градуировочные кривые для определения углеводов в диапазоне концентраций 25–250 мкг/мл.

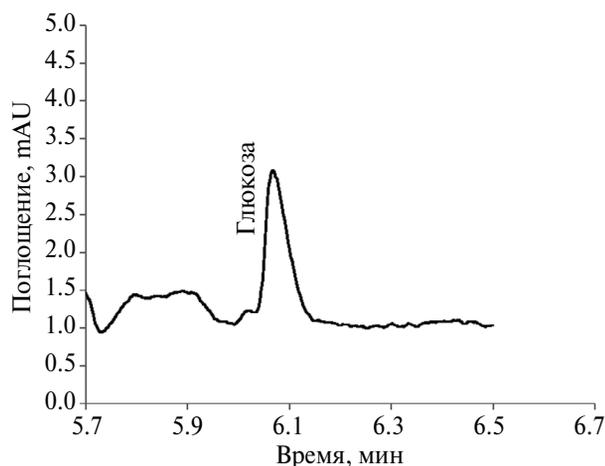


Рис. 6. Электрофореграмма плазмы крови человека. Условия: Капель-105М; капилляр 60×50 см, 50 мкм; фоновый электролит: 2.5 мМ акридонуксусная кислота, 75 мМ КОН, 0.5 мМ цетилтриметиламмоний бромид, 5 об.% MeOH. $U = -20$ кВ, 20°C ; $\lambda = 240$ нм, ввод пробы 5 с×30 мбар.

осаждение которых проводили метанолом. Общее время анализа с учетом пробоподготовки составило не более 12 мин.

Использование акридонуксусной кислоты в качестве поглощающей добавки в составе ФЭ при анализе продуктов питания (соки, детское питание) ограничено, поскольку приводит к слишком быстрой миграции аналитов и неполному разделению пиков, что затрудняет идентификацию и количественную оценку. В связи с этим в качестве альтернативной поглощающей добавки выбрали фолиевую кислоту. В предварительных экспериментах установили, что она обеспечивает высокую селективность разделения нейтральных углеводов и достаточно низкие значения пределов обнаружения (рис. 1, табл. 1). Аналогично исследовали зависимость факторов разрешения и ределов

обнаружения аналитов от концентрации фолиевой кислоты, щелочи и ЦТАБ. Лучшие результаты достигнуты при следующем составе фонового электролита: 2.5 мМ фолиевой кислоты, 75 мМ КОН, 0.5 мМ ЦТАБ, 5 об. % метанола. Пределы обнаружения углеводов составили 25–85 мкг/мл.

Для определения углеводов в пюре различного состава для детского питания (табл. 3) построили градуировочные зависимости для определения фруктозы, глюкозы, мальтозы, лактозы и сахарозы в диапазоне концентраций 100–500 мкг/мл.

В случае образцов сока пробоподготовка заключалась в осаждении мякоти и разбавлении надосадочной жидкости в 100 раз. Полученный раствор подвергали электрофоретическому анализу (рис. 7а). Для образцов детского питания (табл. 3) отбирали навески и растворяли в воде. Разбавление проб выбирали в зависимости от предполагаемого содержания углеводов, исходя из данных о пищевой ценности каждого образца. Во всех образцах обнаружили фруктозу и глюкозу. Лактозу идентифицировали в образцах, содержащих молочные продукты. В некоторых образцах выявили сахарозу (табл. 3, рис. 7б).

* * *

Таким образом, предложены варианты электрофоретического определения углеводов в условиях косвенного детектирования с использованием в качестве поглощающих добавок акридонуксусной и фолиевой кислот. Природа поглощающей добавки в наибольшей степени влияет на эффективность и селективность разделения углеводов в условиях косвенного детектирования. Применение акридонуксусной кислоты в составе фонового электролита позволило добиться высокой эффективности, низких значений пределов

Таблица 3. Содержание углеводов в образцах детского питания (мг/г) ($n = 5$, $p = 0.05$).

Углевод	Состав пюре				
	яблоко, банан, творог	яблоко, банан, черника, йогурт	овсянка, яблоко, банан, малина	банан	рис, морковь, курица
Фруктоза	149.3 ± 7.8	92.2 ± 5.9	91.5 ± 5.1	130.3 ± 6.9	5.2 ± 0.4
Глюкоза	52.0 ± 3.6	49.6 ± 4.1	41.0 ± 4.0	105.9 ± 6.2	2.6 ± 0.3
Мальтоза	—	26.6 ± 1.6	—	—	—
Лактоза	—	24.5 ± 1.4	—	—	1.3 ± 0.1
Сахароза	28.5 ± 2.2	29.1 ± 2.0	—	9.6 ± 0.8	2.5 ± 0.2

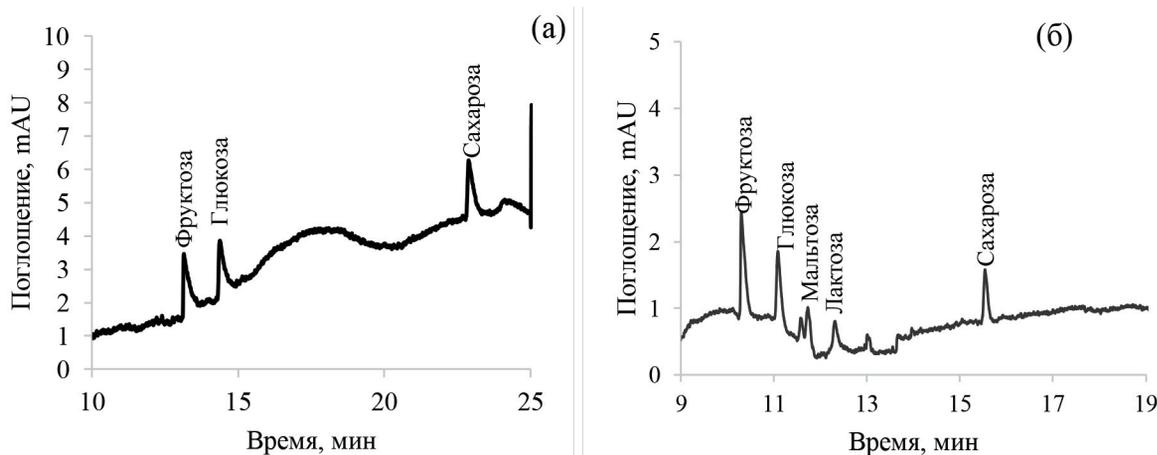


Рис. 7. Электрофореграммы образцов апельсинового сока (а) и детского питания, содержащего яблоко, банан, чернику и йогурт (б). Условия: Капель-105М; капилляр 60×50 см, 50 мкм; фоновый электролит: 2.5 мМ фолиевая кислота, 75 мМ КОН, 0.5 мМ цетилтриметиламмоний бромид, 5 об.% MeOH, $U = -20$ кВ, 20°C ; $\lambda = 238$ нм, ввод пробы $5 \text{ с} \times 30$ мбар.

обнаружения, сокращения продолжительности анализа, что важно при определении глюкозы в образцах плазмы крови человека для диагностики нарушения обмена веществ. Однако для анализа продуктов питания предпочтительнее применять фолиевую кислоту, обеспечивающую высокую селективность разделения.

Авторы выражают благодарность Научному парку СПбГУ, Ресурсному центру “Методы анализа состава вещества”.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (номер гранта 19-13-00370).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Chen Y.F., Li M.Y., Wang S.R., Peng, H.J., Reid S., Ni N.T., Fang H., Xu W.F. Carbohydrate biomarkers for future disease detection and treatment // *Sci. China Chem.* 2010. V. 53. № 1. P. 3. doi: 10.1007/s11426-010-0021-3
- Kiely L.J., Hickey R.M. Characterization and analysis of food-sourced carbohydrates / *Glycosylation* / Ed. Davey G.P. New York: Humana New York, 2022. P. 67. doi: 10.1007/978-1-0716-1685-7-4
- Nagy G., Peng T., Pohl N.L.B. Recent liquid chromatographic approaches and developments for the separation and purification of carbohydrates // *Anal. Methods.* 2017. V. 9. № 24. P. 3579. doi: 10.1039/c7ay01094j
- Карцова Л.А., Малюшевская А.В., Колобова Е.А. Аналитические возможности определения углеводов хроматографическими и электрофоретическими методами // *Журн. аналит. химии.* 2023. Т. 78. № 2. С. 108. doi: 10.31857/S0044450223020044 (Kartsova L.A., Maliushevskaya A.V., Kolobova E.A. Analytical capabilities of the determination of carbohydrates by chromatographic and electrophoretic methods // *J. Anal. Chem.* 2023. V. 78. № 2. P. 156. doi: 10.1134/S1061934823020041)
- Rovio S., Yli-Kauhaluoma J., Sirén H. Determination of neutral carbohydrates by CZE with direct UV detection // *Electrophoresis.* 2007. V. 28. № 17. P. 3129. doi: 10.1002/elps.200600783
- Алексеева А.В., Карцова Л.А., Казачищева Н.В. Определение сахаров методом лигандообменного капиллярного электрофореза // *Журн. аналит. химии.* 2010. Т. 65. № 2. P. 205. (Alekseeva A.V., Kartsova L.A., Kazachishcheva N.V. Determination of sugars using ligand-exchange capillary electrophoresis // *J. Anal. Chem.* 2010. V. 65. № 2. P. 202. doi: 10.1134/S1061934810020176)
- Schwaiger H., Oefne P.J., Huber C., Grill E., Bonn G.K. Capillary zone electrophoresis and micellar electrokinetic chromatography of 4-aminobenzonitrile carbohydrate derivatives // *Electrophoresis.* 1994. V. 15. № 7. P. 941. doi: 10.1002/ELPS.11501501138
- Taga A., Suzuki S., Honda S. Capillary electrophoretic analysis of carbohydrates derivatized by in-capillary condensation with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone // *J. Chromatogr. A.* 2001. V. 911. № 2. P. 259. doi: 10.1016/S0021-9673(01)00516-7
- Soga T., Ross G.A. Simultaneous determination of inorganic anions, organic acids, amino acids and carbohydrates by capillary electrophoresis // *J. Chromatogr. A.* 1999. V. 837. № 1–2. P. 231. doi: 10.1016/S0021-9673(99)00092-8
- Vaher M., Koel M., Kazarjan J., Kaljurand M. Capillary electrophoretic analysis of neutral carbohydrates using ionic liquids as background electrolytes // *Electrophoresis.* 2011. V. 32. № 9. P. 1068. doi: 10.1002/elps.201000575

11. *Jiang T.F., Chong L., Yue M.E., Wang Y.H., Lv Z.H.* Separation and determination of carbohydrates in food samples by capillary electrophoresis using dynamically coating the capillary with indirect UV detection // *Food Anal. Methods*. 2015. V. 8. № 10. P. 2588. doi: 10.1007/s12161-015-0157-z
12. *Jager A.V., Tonin F.G., Tavares M.F.M.* Comparative evaluation of extraction procedures and method validation for determination of carbohydrates in cereals and dairy products by capillary electrophoresis // *J. Sep. Sci.* 2007. V. 30. P. 586. doi: 10.1002/jssc.200600370
13. *Dominguez M.A., Jacksén J., Emmer A., Centurión M.E.* Capillary electrophoresis method for the simultaneous determination of carbohydrates and proline in honey samples // *Microchem. J.* 2016. V. 129. P. 1. doi: 10.1016/j.microc.2016.05.017
14. *Warren C.R., Adams M.A.* Capillary electrophoresis for the determination of major amino acids and sugars in foliage: Application to the nitrogen nutrition of sclerophyllous species // *J. Exp. Bot.* 2000. V. 51. № 347. P. 1147. doi: 10.1093/JEXBOT/51.347.1147
15. *Xu X., Kok W.T., Poppe H.* Sensitive determination of sugars by capillary zone electrophoresis with indirect UV detection under highly alkaline conditions // *J. Chromatogr. A.* 1995. V. 716. № 1–2. P. 231. doi: 10.1016/0021-9673(95)00552-X
16. *Lu B., Westerlund D.* Indirect UV detection of carbohydrates in capillary zone electrophoresis by using tryptophan as a marker // *Electrophoresis*. 1996. V. 17. № 2. P. 325. doi: 10.1002/ELPS.1150170207
17. *Gürel A., Hızal J., Öztekin N., Erim F.B.* CE determination of carbohydrates using a dipeptide as separation electrolyte // *Chromatographia*. 2006. V. 64. № 5–6. P. 321. doi: 10.1365/s10337-006-0032-6
18. *Mikkers F.E.P., Everaerts F.M., Verheggen T.P.E.M.* Concentration distribution in zone electrophoresis // *J. Chromatogr. A.* 1979. V. 169. P. 1. doi: 10.1016/0021-9673(75)85028-X
19. *Shamsi Sh.A.* Indirect detection methods in capillary electrophoresis / *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation Electronic. Absorption and Luminescence* / Ed. Meyers R.A. Hoboken: John Wiley & Sons, 2006. P. 1. doi: 10.1002/9780470027318.a5404
20. *Li W., Zhang M., Zhang J., Han Y.* Self-assembly of cetyl trimethylammonium bromide in ethanol-water mixtures // *Front. Chem. China*. 2006. V. 1. P. 438. doi: 10.1007/s11458-006-0069-y
21. *Kolobova E., Kartsova L., Kravchenko A., Bessonova E.* Imidazolium ionic liquids as dynamic and covalent modifiers of electrophoretic systems for determination of catecholamines // *Talanta*. 2018. V. 188. P. 183. doi: 10.1016/j.talanta.2018.05.057
22. *Blesic M., Marques M.H., Plechkova N.V., Seddon K.R., Rebelo L.P.N., Lopes A.* Self-aggregation of ionic liquids: micelle formation in aqueous solution // *Green Chem.* 2007. V. 9. P. 481. doi: 10.1039/b615406a
23. *Kaper H., Smarsly B.* Templating and phase behaviour of the long chain ionic liquid C₁₆MImCl // *Z. Phys. Chem.* 2006. V. 220. P. 1455. doi: 10.1524/zpch.2006.220.10.1455

УДК 543.4

АВТОМАТИЗИРОВАННОЕ МИКРОЭКСТРАКЦИОННОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ СВИНЦА ИЗ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТОДОМ АТОМНО-АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ¹

© 2024 г. А. Ю. Шишов^{а,*}, А. В. Булатов^а

^а *Институт химии Санкт-Петербургского государственного университета
Университетский просп., 26, Санкт-Петербург, 198504 Россия*

^{*} *e-mail: andrey.shishov.rus@gmail.com*

Поступила в редакцию 02.04.2023 г.

После доработки 24.04.2023 г.

Принята к публикации 25.04.2023 г.

Для жидкостной микроэкстракции свинца из растительных масел в качестве “зеленых” экстрагентов изучены гидрофильные глубокие эвтектические растворители на основе хлорида холина, карбоновых кислот и воды. Разработан автоматизированный способ микроэкстракции свинца из растительных масел в трехкомпонентный глубокий эвтектический растворитель на основе хлорида холина, молочной кислоты и воды. Карбоновая кислота в составе экстрагента обеспечила эффективный массоперенос свинца за счет комплексообразования. Вода в составе экстрагента позволила снизить его вязкость для автоматизации жидкостной микроэкстракции. Аналитические возможности разработанного способа продемонстрированы на примере определения свинца в растительных маслах методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией. Предел обнаружения (3σ) свинца составил 0.3 мкг/кг. Разработанный способ не требует минерализации пробы.

Ключевые слова: свинец, растительное масло, жидкостная микроэкстракция, глубокий эвтектический растворитель, автоматизация, атомно-абсорбционный спектральный анализ.

DOI: 10.31857/S0044450224020074, **EDN:** vyqyun

Растительные масла являются неотъемлемой частью повседневного рациона человека. Они обладают высокой пищевой ценностью, содержат незаменимые питательные вещества (моно- и полиненасыщенные жирные кислоты, фосфолипиды, фитостерины, витамины).

Однако помимо полезных веществ они могут содержать различные загрязнители. К числу контролируемых загрязнителей относят свинец [1]. В соответствии с ГОСТом [2] допустимое содержание свинца в растительных маслах составляет 0.1 мг/кг. Свинец может накапливаться в организме человека, оказывая вредное воздействие на кровеносную, почечную и репродуктивную функции, центральную нервную систему [3, 4].

Для определения свинца в растительных маслах широкое применение находят методы атомно-абсорбционной (ААС) [5–8] и атомно-эмиссионной спектроскопии (АЭС) [9], а также электрохимические методы [10, 11].

Независимо от метода анализа пробы растительных масел предварительно подготавливают. Как правило, пробоподготовка масел включает в себя микроволновую минерализацию [11, 12] и выполняется в избытке азотной кислоты и пероксида водорода. В результате происходит выделение в атмосферу токсичных оксидов азота.

После минерализации требуется нейтрализация избытка азотной кислоты и многократное разбавление минерализата для снижения концентрации образующихся солей. В то же время процедура разбавления нежелательна при определении следовых концентраций загрязнителей.

Показана возможность выделения свинца и других металлов из растительных масел методом жидкостной микроэкстракции [6] без применения систем микроволнового разложения проб. При этом в качестве “зеленых” экстрагентов в последнее время находят все большее применение глубокие эвтектические растворители

¹Посвящается 300-летию Санкт-Петербургского государственного университета.

(ГЭР) [13]. Такие растворители представляют собой смеси, состоящие из доноров и акцепторов водородной связи, при смешивании которых образуются жидкости с более низкими температурами плавления, чем у исходных компонентов [14]. Преимущества ГЭР по сравнению с традиционными экстрагентами — это возможность приготовления в лаборатории, регулирование экстракционных свойств при изменении природы прекурсоров и их соотношения, низкие летучесть и токсичность [15, 16].

Повысить эффективность жидкостной микроэкстракции позволяет ее автоматизация на принципах проточных методов, в которых основной акцент сделан на замену ручных процедур автоматизируемыми операциями объединения и смешения потоков пробы, растворов реагентов и экстрагентов [17, 18].

Автоматизация пробоподготовки позволяет снизить трудозатраты и обеспечить высокую воспроизводимость результатов химического анализа. Предложено несколько вариантов автоматизированного анализа водных проб с применением гидрофобных ГЭР [19–21], однако для элементного анализа растительных масел разработан только один автоматизированный способ микроэкстракции в фазу ГЭР [22], который нашел применение для определения меди (катализатор окисления полиненасыщенных жирных кислот) в растительных маслах методом ААС.

В данной работе разработан автоматизированный способ жидкостной микроэкстракции свинца из растительных масел в фазу трехкомпонентного ГЭР на основе хлорида холина, молочной кислоты и воды. Он предполагает последовательное выполнение стадий массопереноса в фазу ГЭР и разделения фаз непосредственно в шприцевом насосе проточной системы. Определение свинца в экстрактах выполняли методом ААС с электротермической атомизацией (ЭТААС).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Использовали следующие реактивы: пероксид водорода (30%), хлорид холина, винная, яблочная, лимонная, щавелевая и малоновая безводные кислоты, молочная (80%) и азотная (65%) кислоты, изопропиловый спирт, 2-этилгексонат свинца. Все реагенты имели квалификацию не ниже ч.д.а.

Стандартный раствор свинца в масле (0.1 г/кг) готовили путем растворения навески реагента

2-этилгексоната свинца в подсолнечном масле, раствор хранили при 4°C. Рабочие растворы свинца в подсолнечном масле готовили непосредственно перед экспериментом последовательным разбавлением стандартного раствора той же матрицей. Содержание свинца в подсолнечном масле предварительно определяли методом АЭС после микроволновой минерализации пробы.

Оливковое, подсолнечное и рапсовое масло приобретали в местном супермаркете (Санкт-Петербург, Россия). Все пробы хранили в оригинальной упаковке (пластиковые или стеклянные флаконы) в темном месте при комнатной температуре в течение трех месяцев.

Гидравлическая схема (рис. 1) автоматизации жидкостной микроэкстракции предполагала коммутацию следующих устройств: восьмифазового крана-переключателя (Sciware Systems, Испания); шприцевого насоса (Sciware Systems, Испания) со стеклянным шприцем емк. 5 мл, снабженным магнитной мешалкой (Sciware Systems, Испания) (длина 5 мм, диаметр 2 мм), помещенной внутрь шприца. Устройство магнитной мешалки подробно описано в работе [23]. Для коммутации устройств использовали трубки из политетрафторэтилена внутренним диаметром 0.8 мм.

Для определения концентрации свинца в экстрактах использовали атомно-абсорбционный спектрометр (Shimadzu, Япония) с дейтериевой коррекцией фона и системой распылителя с графитовой печью.

Атомно-эмиссионный спектрометр ICPE-9000 с индуктивно связанной плазмой (Shimadzu, Япония) использовали для определения свинца в маслах после их микроволнового разложения.

Минерализацию проб проводили в системе микроволнового разложения MDS-12 (Sineo, Китай). Динамическую вязкость экстрагентов измеряли с помощью вискозиметра Штабингера SVM 1001 (Anton Paar, Австрия). Для определения воды в ГЭР использовали кулонометрический титратор 831KF (Metrohm, Швейцария).

Для приготовления двухкомпонентных ГЭР хлорид холина, малоновой и карбоновой кислот смешивали в мольном соотношении 1:1 при перемешивании магнитной мешалкой при 100°C до получения однородных вязких жидкостей. Для приготовления трехкомпонентных ГЭР к двухкомпонентным растворителям добавляли воду (до 30%).

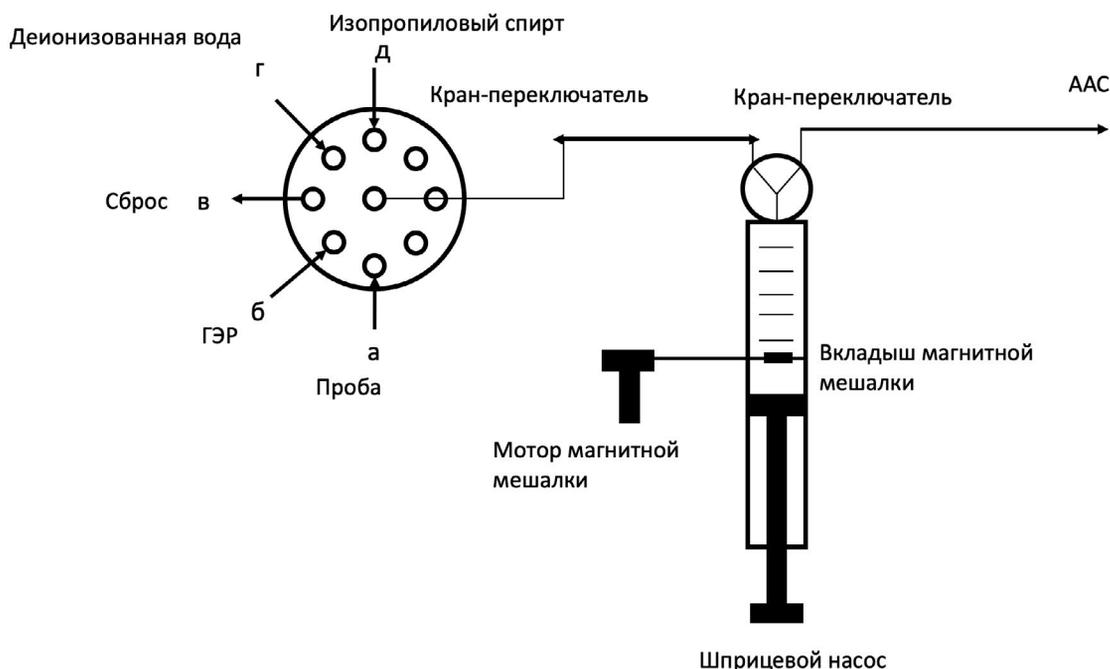


Рис. 1. Гидравлическая схема для автоматизации микроэкстракции свинца из растительных масел.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На предварительном этапе для выделения свинца из растительного масла в качестве “зеленых” экстрагентов изучали двухкомпонентные гидрофильные ГЭР на основе хлорида холина и карбоновых кислот (винной, яблочной, лимонной, щавелевой, малоновой). Холин-хлорид выступал в качестве акцептора водородных связей, а карбоновые кислоты – в качестве доноров водородных связей.

Выбор таких ГЭР связан с тем, что они не смешиваются с растительным маслом, а выбранные карбоновые кислоты образуют комплексные соединения с ионами металлов [24]. В предварительных экспериментах экстракцию выполняли вручную. Для этого в стеклянном флаконе смешивали 1 г раствора свинца в подсолнечном масле (100 мкг/кг) и 1 г ГЭР. Смесь нагревали до 50 °С для снижения вязкости пробы и экстрагента и перемешивали в течение 60 мин. с помощью магнитной мешалки.

Затем смесь центрифугировали в течение 10 мин. при 600×g, отбирали фазу экстракта, разбавляли ее в 10 раз деионизованной водой и анализировали раствор методом ААС.

Установили, что все изученные ГЭР обеспечивают удовлетворительное извлечение свинца из растительного масла, степень извлечения

превышает 90% (рис. 2). Однако приготовленные ГЭР представляют собой высоковязкие жидкости, которые невозможно отобрать в шприцевой насос проточной системы. Динамическая вязкость ГЭР, установленная при 20 °С с помощью вискозиметра Штабингера, находилась в диапазоне от 140 до 10 млн мПа·с.

Для снижения вязкости экстрагентов к двухкомпонентным ГЭР добавляли воду в диапазоне концентраций от 10 до 30%. Известно, что вода может выступать прекурсором трехкомпонентных ГЭР при ее содержании до 30% [25]. Более высокая концентрация воды может способствовать разрушению ГЭР.

Кроме того, готовили трехкомпонентный ГЭР на основе хлорида холина, молочной кислоты и воды. Исходная молочная кислота содержала 20% воды, поэтому двухкомпонентный ГЭР на ее основе не получали. Все трехкомпонентные ГЭР на основе хлорида холина, карбоновых кислот и воды тестировали для оценки возможности выделения свинца из растительного масла.

На основании полученных результатов (см. рис. 2) сделали вывод, что двухкомпонентные и трехкомпонентные ГЭР обеспечивают сопоставимую эффективность выделения свинца. При этом с увеличением концентрации воды

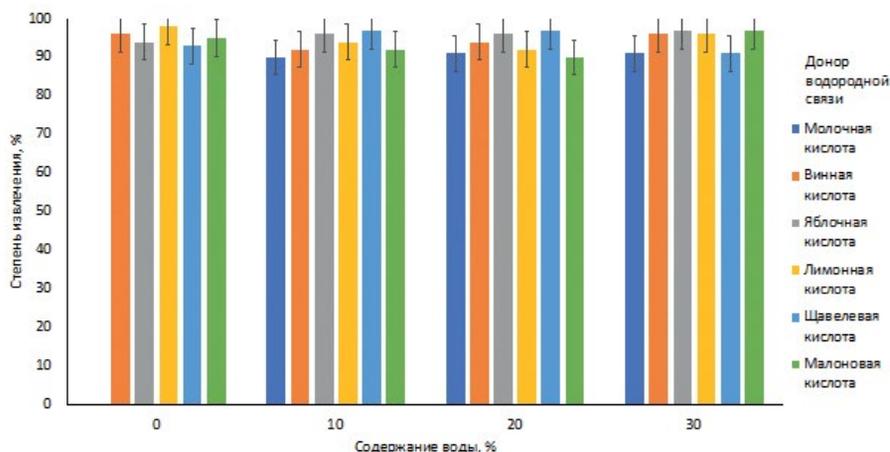


Рис. 2. Влияние состава ГЭР на степень выделения свинца из растительного масла (100 мкг/л Pb, объем пробы – 1 мл, объем ГЭР – 1 мл, время перемешивания фаз – 30 мин).

в трехкомпонентных ГЭР их вязкость значительно снижается (табл. 1).

Минимальные значения динамической вязкости получили в случае ГЭР на основе молочной, щавелевой и малоновой кислот. Однако ионы свинца с щавелевой и малоновой кислотами образуют осадки, поэтому в качестве донора водородной связи выбрали молочную кислоту, которая обеспечивает массоперенос ионов свинца за счет образования комплексов, растворимых в фазе ГЭР. При этом введение воды в ГЭР (30%) обеспечило существенное снижение вязкости экстрагента для его воспроизводимого отбора в шприцевой насос.

Соотношение объемов пробы и ГЭР влияет на степень извлечения свинца и коэффициент концентрирования. Изучали влияние объема экстрагента при фиксированном объеме пробы на указанные ранее параметры. Режим микроэкстракции оптимизировали в условиях автоматизации процесса. В шприцевой насос (см. рис. 1) через кран-переключатель отбирали 4 мл раствора свинца в подсолнечном масле (25 мкг/кг)

и различные объемы трехкомпонентного ГЭР (хлорид холина, молочная кислота и вода (30%)) в диапазоне от 100 до 500 мкл. Общий объем фаз ограничен номинальным объемом шприца (5 мл). Шприцевой насос оснащен вкладышем магнитной мешалки, который обеспечивал диспергирование ГЭР в фазе пробы при перемешивании (10 мин.).

После остановки перемешивающего устройства и разделения фаз экстракт направляли в полипропиленовую пробирку, разбавляли в 10 раз деионизованной водой и анализировали. С уменьшением объема фазы ГЭР до 100 мкл значение аналитического сигнала (абсорбция) увеличивалось (рис. 3). При объеме фазы ГЭР менее 100 мкл невозможно отобрать экстракт без захвата фазы пробы.

Поскольку масло и ГЭР являются вязкими жидкостями, процесс массопереноса может быть кинетически замедленным. Изучали влияние времени перемешивания фаз на эффективность массопереноса. Для этого раствор свинца в подсолнечном масле (4.0 мл, 25 мкг/кг) и ГЭР (100 мкл) перемешивали в шприце в течение 1–10 мин. Определили,

Таблица 1. Динамическая вязкость глубоких эвтектических растворителей (акцептор водородной связи – хлорид холина) ($n = 3$, $P = 0.95$).

Донор водородной связи	Динамическая вязкость при 25°C, мПа с			
	1% воды	10% воды	20% воды	30% воды
Молочная кислота	–	154±6	36.1±1.1	13.6±0.4
Щавелевая кислота	284±11	46±1	15.7±0.3	7.1±0.3
Малоновая кислота	2208±50	147±4	21.8±0.8	10.8±0.4
Яблочная кислота	19098±180	401±12	69±2	18.4±0.5
Винная кислота	4504994±13000	2436±60	158±4	29.1±1.2
Лимонная кислота	10099000±167000	8327±80	343±10	34.4±1.6

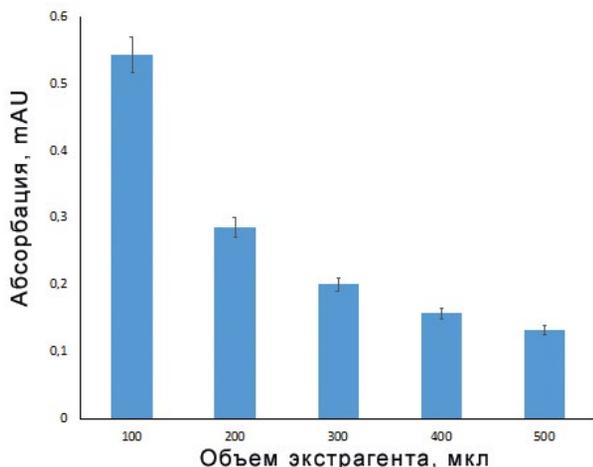


Рис. 3. Влияние объема трехкомпонентного ГЭР на основе хлорида холина, молочной кислоты и воды на абсорбцию (25 мкг/л Pb, объем пробы – 4 мл, время перемешивания фаз 10 мин.).

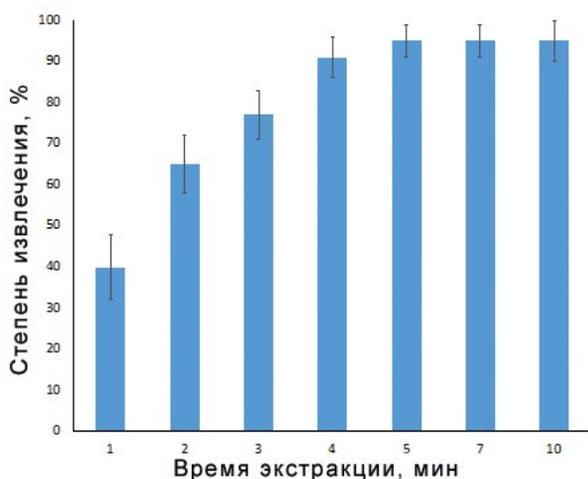


Рис. 4. Влияние времени перемешивания фаз в шприцевом насосе на степень выделения свинца из растительного масла (25 мкг/л Pb, объем пробы – 4 мл, объем ГЭР – 100 мкл).

что для установления равновесия в экстракционной системе требуется перемешивание фаз в течение 5 мин. (рис. 4).

Компоненты матрицы масла и сами прекурсоры ГЭР могут влиять на значение аналитического сигнала. Изучали их влияние на абсорбцию при определении свинца методом ЭТААС. Для этого в шприцевой насос отбирали 4 мл раствора свинца в подсолнечном масле (20 мкг/кг) и 100 мкл ГЭР. После микроэкстракции отбирали экстракт и разбавляли его деионизованной водой в 2–10 раз. Измеряли абсорбцию водного раствора ионов свинца и разбавленного экстракта,

в которых концентрации аналита были одинаковы. Оценивали смещение по формуле

$$\text{Смещение (\%)} = (\text{Абсорбция экстракта} / \text{Абсорбция стандартного раствора} - 1) \times 100.$$

Установили, что минимальное смещение (8%) наблюдается при пятикратном разбавлении экстракта и более. В этом случае для построения градуировочной кривой можно использовать стандартные водные растворы аналита. Таким образом, при соотношении фаз 100:4 000 (ГЭР-проба) степень извлечения свинца составила 95%, а коэффициент концентрирования с учетом пятикратного разбавления – 8.

Полученные результаты позволили предложить способ определения свинца в растительных маслах.

На первом этапе через кран-переключатель (положение *a*) в шприцевой насос отбирали 4 мл пробы со скоростью 2 мл/мин (см. рис. 1). После этого кран переключали в положение *b* и в шприцевой насос отбирали 100 мкл трехкомпонентного ГЭР (хлорид холина – молочная кислота – вода (30%)) со скоростью 1 мл/мин.

Затем для интенсификации экстракции двухфазную систему перемешивали с помощью вкладыша магнитной мешалки расположенного внутри шприца. Время диспергирования – 5 мин. Затем мешалку останавливали, и выдерживали 5 мин. для разделения фаз. Верхнюю фазу пробы сбрасывали через кран-переключатель (положение *b*), затем кран менял положение (*c*), и в шприцевой насос отбирали 400 мкл деионизованной воды для разбавления экстракта.

После перемешивания фаз в течение 10 с полученный раствор направляли на анализ. На последнем этапе в шприцевой насос отбирали 500 мкл изопропилового спирта (положение *d* крана-переключателя) для промывки.

Условия атомно-абсорбционного анализа: ток лампы – 4 мА, длина волны – 192.8 нм, ширина щели – 0.4 нм, объем пробы для анализа – 10 мкл.

Для построения градуировочной зависимости использовали стандартные водные растворы ионов свинца, приготовленные разбавлением стандартного образца раствора ионов свинца (ГСО 7877-2000, 1 г/л). Диапазон определяемых концентраций свинца в водной фазе составил от 8 до 160 мкг/л с коэффициентом детерминации 0.9992.

Уравнение градуировочной кривой: $A = 0.0054c + 0.0316$, где A – абсорбция, c – концентрация ионов свинца в водном растворе (мкг/л). Диапазон определяемых концентраций свинца

в масле составил от 1 до 20 мкг/кг (установлен с учетом соотношения фаз, степени извлечения, коэффициента разбавления и плотности масла). Пределы обнаружения (3σ) и определения (10σ) составили 0.3 и 1 мкг/кг соответственно. Способ позволяет определять свинец в растительных маслах ниже уровня допустимой концентрации (0.1 мг/кг).

Для оценки прецизионности рассчитывали относительное среднеквадратичное отклонение (ОСКО). Для этого выполняли анализ растительного масла с добавками свинца (1 и 20 мкг/кг). Значения ОСКО в условиях повторяемости составили 7 и 5% для концентраций аналита 1 и 20 мкг/кг соответственно. Значения ОСКО в условиях внутрилабораторной воспроизводимости – 9 и 7% для концентраций аналита 1 и 20 мкг/кг соответственно.

Правильность получаемых результатов подтверждали методом “введено–найдено”. Для этого определяли свинец в оливковом, подсолнечном и рапсовом масле до и после введения добавок 2-этилгексоната свинца. Во всех пробах масла содержание свинца было ниже предела обнаружения (табл. 2). Для всех проб установленное смещение не превышало 8%, что подтверждает отсутствие существенного мешающего влияния компонентов матрицы на извлечение и определение свинца методом ЭТААС.

Дополнительно анализировали пробы масла методом АЭС с индуктивно связанной плазмой с предварительной микроволновой

минерализацией проб. Для этого в соответствии с рекомендациями [24] 0.5 г пробы масла смешивали с 3 мл 65%-ной азотной кислоты и 2 мл 30%-ного пероксида водорода в тefлоновом сосуде для микроволнового разложения.

Через 30 мин. сосуды помещали в систему микроволновой минерализации и проводили разложение по следующей программе: подъем температуры до 130 °С в течение 5 мин.; выдерживание при 130 °С в течение 15 мин.; охлаждение до 80 °С в течение 10 мин. Полученные минерализаты нейтрализовали добавлением раствора аммиака (6 М), растворы переносили в мерные колбы емк. 25 мл и доводили до метки деионизованной водой для дальнейшего анализа.

Свинец в растворах определяли при следующих условиях: скорость потока пробы – 1.0 мл/мин, расход плазмообразующего газа (аргона) – 10.0 мл/мин, расход вспомогательного газа (аргона) – 0.2 мл/мин, расход аргона через небулайзер – 1 мл/мин, мощность высокочастотного генератора – 1.5 кВт. Для сравнения результатов, полученных методами ЭТААС и АЭС, использовали F - и t -критерии ($n = 5$). Полученные значения $F \leq 5.05$ (см. табл. 2) указывают на незначительное различие в величинах стандартных отклонений, а полученные значения $t \leq 2.78$ указывают на отсутствие статистически значимого различия между полученными результатами.

Таблица 2. Результаты определения свинца в растительных маслах ($n = 5$, $P = 0.95$, $F = 5.05$, $t = 2.78$)

Проба	Введено, мкг/кг	Найдено, мкг/кг		F -тест	t -тест	Смещение, %
		ААС	АЭС			
Подсолнечное масло	0	<0.3	<0.1	–	–	–
	1	0.92±0.02	0.93±0.02	2.34	1.43	8
	10	10.8±0.4	11.4±0.4	2.45	1.56	8
Рапсовое масло	0	<0.3	<0.1	–	–	–
	1	1.01±0.03	1.02±0.02	2.46	1.33	1
	10	9.7±0.3	9.9±0.4	3.45	0.97	3
Оливковое масло	0	<0.3	<0.1	–	–	–
	1	1.02±0.02	1.04±0.03	3.47	1.22	2
	10	10.4±0.4	9.8±0.3	4.21	1.45	4

* * *

Для определения свинца в растительных маслах методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией разработан автоматизированный способ жидкостной микроэкстракции, основанный на выделении аналита в трехкомпонентный глубокий эвтектический растворитель на основе хлорида холина, молочной кислоты и воды.

Молочная кислота в составе экстрагента выступает в качестве хелатирующего агента для реакционной микроэкстракции. Вода в составе экстрагента позволяет снизить его вязкость для реализации автоматизированной микроэкстракции на принципах проточного метода.

Установлены основные закономерности массопереноса свинца из растительного масла в трехкомпонентный глубокий эвтектический растворитель. Способ позволил исключить ручные манипуляции при пробоподготовке и стадию центрифугирования при выполнении микроэкстракции.

Авторы выражают благодарность Российскому научному фонду (проект № 22-73-10039, <https://rscf.ru/project/22-73-10039/>) за финансовую поддержку. Исследования выполнены на оборудовании научного парка СПбГУ (Центр методов анализа состава веществ).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Shah N.S., Soylyak M.* Advanced methodologies for trace elements in edible oil samples: A review // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2022. V. 52. № 7 P. 1572. <https://doi.org/10.1080/10408347.2021.1895710>
2. ГОСТ 26932-86. Государственный стандарт Российской Федерации. Сырье и продукты пищевые. Методы определения свинца. <https://docs.cntd.ru/document/1200021129>
3. *Mdluli N.S., Nomngongo P.N., Mketi N.* A critical review on application of extraction methods prior to spectrometric determination of trace-metals in oily matrices // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2022. V. 52. № 1. P. 1. <https://doi.org/10.1080/10408347.2020.1781591>
4. *Dadfarnia S., Salmanzadeh A.M., Shabani A.M.H.* A novel separation/preconcentration system based on solidification of floating organic drop microextraction for determination of lead by graphite furnace atomic absorption spectrometry // *Anal. Chim. Acta.* 2008. V. 623. № 2. P. 163. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.06.033>
5. *López-García I., Vicente-Martínez Y., Hernández-Córdoba M.* Determination of cadmium and lead in edible oils by electrothermal atomic absorption spectrometry after reverse dispersive liquid-liquid microextraction // *Talanta.* 2014. V. 124. P. 106. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.02.011>
6. *Yao L., Liu H., Wang X., Xu W., Zhu Y., Wang H., Pang L., Lin C.* Ultrasound-assisted surfactant-enhanced emulsification microextraction using a magnetic ionic liquid coupled with micro-solid phase extraction for the determination of cadmium and lead in edible vegetable oils // *Food Chem.* 2018. V. 256. P. 212. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.132>
7. *Gunduz S., Akman S.* Investigation of trace element contents in edible oils sold in Turkey using microemulsion and emulsion procedures by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry // *L.W.T.* 2015. V. 64. № 2. P. 1329. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.032>
8. *Karadjova I., Zachariadis G., Boskou G., Stratis J.* Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of aluminium, cadmium, chromium, copper, iron, manganese, nickel and lead in olive oil // *J. Anal. At. Spectrom.* 1998. V. 13. № 3. P. 201. <https://doi.org/10.1039/a707256b>
9. *Hsu W.H., Jiang S.J., Sahayam A.C.* Determination of Cu, As, Hg and Pb in vegetable oils by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry with palladium nanoparticles as modifier // *Talanta.* 2013. V. 117. P. 268. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.09.013>
10. *Abbasi S., Allahyari M., Taherimaslak Z., Nematollahi D., Abbasi F.* New determination of lead in edible oil and water samples by high selective adsorptive stripping voltammetry with SPADNS // *Int. J. Electrochem. Sci.* 2009. V. 4. № 4. P. 602.
11. *Dugo G., La Pera L., La Torre G. L., Giuffrida D.* Determination of Cd(II), Cu(II), Pb(II), and Zn(II) content in commercial vegetable oils using derivative potentiometric stripping analysis // *Food Chem.* 2004. V. 87. №4. P. 639. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.12.035>
12. *Ansari R., Kazi T.G., Jamali M.K., Arain M.B., Wagan M.D., Jalbani N., Afridi H.I., Shah A.Q.* Variation in accumulation of heavy metals in different varieties of sunflower seed oil with the aid of multivariate technique // *Food Chem.* 2009. V. 115. № 1. P. 318. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.051>
13. *Shishov A., Gorbunov A., Baranovskii E., Bulatov A.* Microextraction of sulfonamides from chicken meat samples in three-component deep eutectic solvent // *Microchem. J.* 2020. V. 158. Article 105274. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105274>
14. *Pochivalov A., Cherkashina K., Shishov A., Bulatov A.* Microextraction of sulfonamides from milk samples based on hydrophobic deep eutectic solvent formation by pH adjusting // *J. Mol. Liq.* 2021. V. 339.

- Article 116827.
<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116827>
15. *Milevskii N.A., Zinov'eva I.V., Zakhodyaeva Y.A., Voshkin A.A.* Separation of Li(I), Co(II), Ni(II), Mn(II), and Fe(III) from hydrochloric acid solution using a menthol-based hydrophobic deep eutectic solvent // *Hydrometallurgy*. 2022. V. 207. Article 105777. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2021.105777>
 16. *Tsvetov N., Paukshta O., Fokina N., Volodina N., Satarov A.* Application of natural deep eutectic solvents for extraction of bioactive components from *Rhodiola Rosea* (L.) // *Molecules*. 2023. V. 28. № 2. Article 912. <https://doi.org/10.3390/molecules28020912>
 17. *Vakh K.S., Timofeeva I.I., Bulatov A.B.* Автоматизация микроэкстракционного концентрирования на принципах циклического инъекционного анализа // *Журн. аналит. химии*. 2019. Т. 74. № 11. С. 846. (*Vakh K.S., Timofeeva I.I., Bulatov A.V.* Automation of microextraction preconcentration methods based on stepwise injection analysis // *J. Anal. Chem.* 2019. V. 74. № 11. P. 1127. <https://doi.org/10.1134/S106193481911011X>)
 18. *Цизин Г.И., Статкус М.А., Золотов Ю.А.* Сорбционное и экстракционное концентрирование микрокомпонентов в проточных системах анализа // *Журн. аналит. химии*. 2015. Т. 70. № 11. С. 1123.
 19. *Yildirim S., Cocovi-Solberg D.J., Uslu B., Solich P., Horstkotte B.* Lab-in-syringe automation of deep eutectic solvent-based direct immersion single drop microextraction coupled online to high-performance liquid chromatography for the determination of fluoroquinolones // *Talanta*. 2022. V. 246. Article 123476. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123476>
 20. *Shishov A., Pochivalov A., Dubrovsky I., Bulatov A.* Deep eutectic solvents with low viscosity for automation of liquid-phase microextraction based on lab-in-syringe system: Separation of Sudan dyes // *Talanta*. 2023. V. 255. Article 124243. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.124243>
 21. *Shakirova F., Shishov A., Bulatov A.* Automated liquid-liquid microextraction and determination of sulfonamides in urine samples based on schiff bases formation in natural deep eutectic solvent media // *Talanta*. 2021. V. 234. Article 122660. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122660>
 22. *Shishov A., Gurev I., Bulatov A.* Automated reversed-phase liquid-liquid microextraction based on deep eutectic solvent for the determination of copper as vegetable oil oxidation catalyst // *J. Food Compos. Anal.* 2023. V. 119. Article 105247. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105247>
 23. *Horstkotte B., Suárez R., Solich P., Cerdà V.* In-syringe-stirring: A novel approach for magnetic stirring-assisted dispersive liquid-liquid microextraction // *Anal. Chim. Acta*. 2013. V. 788. P. 52. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.05.049>
 24. *Shishov A., Savinov S., Volodina N., Gurev I., Bulatov A.* Deep eutectic solvent-based extraction of metals from oil samples for elemental analysis by ICP-OES // *Microchem. J.* 2022. V. 179. Article. 107456. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107456>
 25. *Vilková M., Płotka-Wasyłka J., Andruch V.* The role of water in deep eutectic solvent-base extraction // *J. Mol. Liq.* 2020. V. 304. Article 112747. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112747>

УДК 543.068.8:543.422:543.426:543.062:677.016.41

АНАЛИЗ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКЦИИ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ МОЛОЧНОГО ЖИРА И ВЫЯВЛЕНИЕ ФАЛЬСИФИКАЦИИ СМАРТФОНОМ С ПРИЛОЖЕНИЕМ PhotoMetrix PRO®

© 2024 г. В. Г. Амелин^{а,*}, З. А. Ч. Шаока^а, А. В. Третьяков^а

^а Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов

Звенигородское шоссе, 5, Москва, 123022 Россия

* e-mail: amelinvg@mail.ru

Поступила в редакцию 29.03.2023 г.

После доработки 20.04.2023 г.

Принята к публикации 21.04.2023 г.

Предложено УФ-устройство, напечатанное на 3D принтере, для анализа молочной продукции (молоко питьевое, творог, кефир, сметана, сливочное масло) с использованием смартфона и программного обеспечения PhotoMetrix PRO®. Рассмотрено применение одномерного и многомерного анализа, метода главных компонент для идентификации, аутентификации и установления фальсификации молочных продуктов.

Ключевые слова: молочные продукты, идентификация, аутентификация, фальсификация, смартфон, PhotoMetrix PRO®.

DOI: 10.31857/S0044450224020081, **EDN:** vxzwwg

Молоко является продуктом физиологической секреции молочных желез сельскохозяйственных животных (коров, овец, коз, буйволиц, верблюдиц, кобыл), полученным при их доении. Из цельного молока производят молочные продукты: молоко питьевое, сметану, творог, сливочное масло, кефир, йогурт и др. [1–6].

Все молочные продукты содержат в своем составе питательные и биологически активные вещества (белки, жиры, углеводы, минеральные компоненты, витамины), необходимые человеку, в оптимально сбалансированном соотношении. Возрастающее значение молочных продуктов в рационе питания приводит к увеличению спроса на него и, как следствие, дефициту, что зачастую приводит к его фальсификации. Фальсификацию молочных продуктов осуществляют путем частичной замены молочного жира на более дешевые безмолочные продукты (растительное масло, соевые белки, крахмал, мочевины, меламина, поверхностно-активные вещества, воду и т.п.) [7].

Факты фальсификации молочной продукции обычно выявляют методами ближней инфракрасной, флуоресцентной спектроскопии, по соотношению стабильных изотопов легких элементов (H, C, N, S), методом ядерного

магнитного резонанса и хроматографическими методами с обработкой массива данных хемометрическими алгоритмами [8–12]. Для обнаружения замены молочного жира растительными и животными в твороге, сметане и сливочном масле используют в основном методы газовой хроматографии (ГХ) [13–15].

Методом ГХ определяют содержание жирных кислот (в виде метиловых эфиров), по соотношению и концентрации которых устанавливают факты фальсификации жирами немолочного происхождения [1, 13, 14]. Для обнаружения растительных жиров в жировой фазе продукта применяют газожидкостную хроматографию стеринов [15]. Наличие фитостеринов свидетельствует о присутствии жиров растительного происхождения в исследуемом образце.

Сложность при аутентификации сливочного масла заключается в необходимости выявления животных жиров немолочного происхождения, которые не могут быть идентифицированы посредством анализа жирнокислотного или стеринового состава жировой фазы. Для этих целей предложено сочетание методов протонного магнитного резонанса и высокоэффективной

жидкостной хроматографии с рефрактометрическим детектированием [16].

Продемонстрирована возможность идентификации триацилглицеридного профиля как маркера присутствия свиного жира в составе натурального продукта. По результатам исследования установлено, что химический сдвиг в районе сигналов 2.60–2.84 м.д. в спектрах протонного магнитного резонанса характерен исключительно для свиного жира (сала).

Предложены и упрощенные способы выявления фактов фальсификации молочной продукции. Так, для установления фальсификации молока в работе [17] определяли массовую долю жира и белка по рассеянию света с длиной волны 465, 526 и 630 нм. Цифровые изображения светорассеяния получали с помощью цифрового фотоаппарата. Содержание жира и белка и соответственно фальсификацию молока определяли по значениям цветовых каналов RGB.

Предложено [18] микрофлюидное устройство на основе целлюлозной бумаги для установления фальсификации буйволиного молока по результатам определения в нем додецилсульфата натрия, мочевины, карбонатов и гидрокарбонатов. Устройство напечатано на 3D принтере с ограничением трех индикаторных зон парафином. Каждая из зон целлюлозной бумаги пропитана розоловой кислотой (аурином), бромкрезоловым пурпурным и диметиламинобензальдегидом соответственно. Наличие фальсифицирующих ингредиентов определяли визуально по изменению окраски индикаторных зон.

Наличие крахмала в фальсифицированном молоке устанавливали по появлению синей окраски индикаторной бумаги, содержащей KI [19]. Интенсивность окраски бумаги определяли цветометрическим методом с использованием смартфона. Установлена прямолинейная зависимость параметров RGB от концентрации крахмала в диапазоне 0–100 г/л.

Экспрессным и представляющим большой практический интерес является подход, описанный в работе [20]. Для идентификации сливочного масла и выявления его фальсификатов предложен простой метод с использованием нейронных сетей, обученных акустическим частотным характеристикам различных масел. Алгоритм распознавания данных искусственным интеллектом встроен в мобильное приложение. Потребители могут проверить органический

статус продукта, используя звуковые вибрации через динамик своего смартфона.

Предложен простой способ установления фальсификации козьего молока путем разбавления его более дешевым коровьим [21]. Дифференциация основана на наличии каротиноидов в коровьем молоке, имеющем желтоватый оттенок, в то время как в козьем молоке β -каротин превращен в ретинол. Цвет молока определяли сканированием его в полистирольном планшете. Полученные значения RGB обрабатывали хемометрическими алгоритмами.

Получившие наибольшее распространение приемы оценки подлинности молочной продукции нуждаются в должном аппаратном оформлении, наличии квалифицированного персонала, приобретении расходных и комплектующих материалов.

В данной работе нами продемонстрирована возможность использования метода цифровой цветометрии [22, 23] для идентификации и аутентификации молочных продуктов простым и доступным способом с применением смартфона и бесплатного приложения PhotoMetrix PRO®.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Устройства для анализа. Использовали устройства-боксы (9×12×9, 4×12×9 см), напечатанные на 3D-принтере, с установленной УФ-светодиодной матрицей SHL0020UV (390 нм) и блоком питания на 4.5 В (три элемента питания AA). Пробы размещали в стрипованных планшетах для иммуноферментного анализа с отламывающимися лунками из полистирола (SPL, Корея). Интенсивность флуоресценции регистрировали смартфоном Samsung SM-A715F с установленным приложением PhotoMetrix PRO® (рис. 1).

Пробоподготовка. Пробы для анализа приобретали в супермаркетах г. Владимира, Республике Ирак, а также использовали пробы, поступившие в рамках мониторинга во Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ФГБУ «ВГНКИ»). Лунки планшета при анализе молока, кефира, сметаны заполняли с помощью медицинского шприца без иглы (емк. 2 мл) или с помощью медицинского шпателя при анализе творога и сливочного масла с выравниванием их поверхности (рис. 2).

Анализ. Подготовленные лунки с пробой устанавливали в ячейки планшета с координатами D×5, 6...9, поочередно вводили на



Рис. 1. Устройства для цветометрического анализа.



Рис. 2. Заполнение лунок планшета пробами.

середину смотрового окна, прикладывали камеру смартфона к окну с захватом середины лунки в области (ROI) 32×32 , 64×64 или 96×96 пикселей и фотографировали с переменным фокусированием (infinity), автоматическим балансом белого (white balance auto, при использовании белого планшета) и разрешением камеры (resolution) 640×480 (рис. 3).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что молочный жир флуоресцирует при облучении УФ-светом (390 нм) розовым цветом. Наоборот, растительные и животные жиры флуоресцируют в основном синим, голубым или фиолетовым цветами (рис. 4). Данный эффект положен нами в основу определения массовой доли молочного жира цветометрическим методом в молочной продукции и установления фактов фальсификации путем замены молочного жира растительными или животными жирами.

Следует отметить, что при малой концентрации молочного жира в молочных продуктах (менее 30%) визуальное наблюдение цвета осуществить невозможно (молоко, сметана, творог, кефир). В этом случае помогает цветометрический анализ с использованием смартфона.

Для идентификации сливочного масла (61.5–99% молочного жира) визуальное наблюдение возможно — удалось проследить зависимость интенсивности розового свечения от концентрации молочного жира. В случае маргарина или фальсифицированного растительными жирами сливочного масла наблюдали синее (оттенки синего) свечение.

PhotoMetrix PRO®. Приложение для смартфонов PhotoMetrix PRO® на платформе Android предназначено для одномерного (зависимость аналитического сигнала от одного параметра) и многомерного (зависимость аналитического сигнала от многих параметров — цветовых каналов) цветометрического анализа различных объектов [24–27]. В данной работе рассматривали применение PhotoMetrix PRO® для анализа молочных продуктов.

Многомерный анализ (multivariate analysis). Многомерный анализ с использованием цветометрических каналов R, G, B, H, S, V, L и I позволяет использовать алгоритмы методов главных компонент (PCA), иерархического кластерного анализа (HCA) и частичной регрессии метода наименьших квадратов (PLS). Используя данные алгоритмы, можно идентифицировать объекты анализа, установить факт фальсификации и определить концентрацию по градуировочной зависимости, рассчитанной методом PLS.

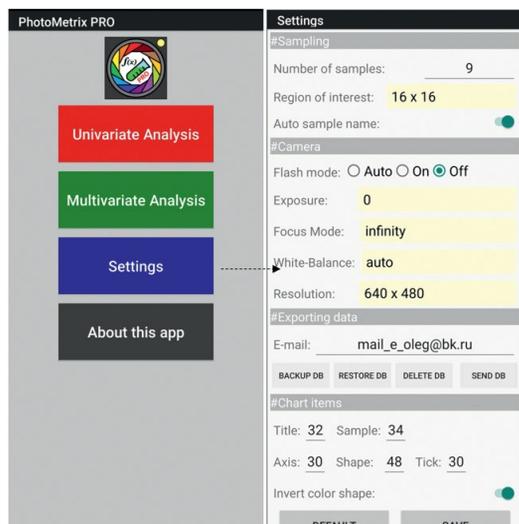


Рис. 3. Установка параметров анализа в PhotoMetrix PRO.

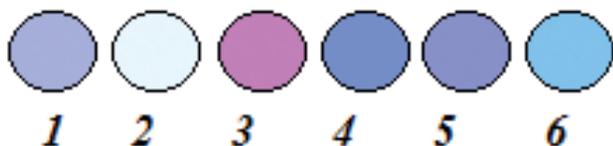


Рис. 4. Цвет флуоресценции жира свиного (1), маргарина (2), масла сливочного (3), жира бараньего (4), жира говяжьего (5), масла пальмового (6).

Рассмотрим применение многомерного анализа на примере анализа масла сливочного. В качестве стандартов использовали сладко-сливочное несоленое масло молочного завода “Суздальский” с массовой долей молочного жира 61.5% (бутербродное, ГОСТ Р 52253-2004), 72.5, 82.5% (“Крестьянское”, ГОСТ 32261-2013), масло топленое “Молградь” 99% (ГОСТ 32262-2013). Соответствие содержанию массовой доли жира определяли по стандартной методике [28].

Визуальное наблюдение и использование метода главных компонент (алгоритм PCA) для идентификации сливочного масла. При визуальном наблюдении оценивали окраску и ее интенсивность (розовое свечение – натуральный молочный продукт). При использовании алгоритмов PCA анализируемые продукты помещали в лунки планшета и проводили фотографирование в разделе Sampling. Графический результат можно посмотреть в разделе Re-Processing (рис. 5а). Используя иерархический кластерный анализ (алгоритм HCA), можно посмотреть полученную дендрограмму (устанавливается автоматически после использования алгоритма PCA) (рис. 5б).

На рис. 6 показаны полученные графики PCA и HCA для исследованного сливочного масла и маргарина. Как видно, сливочное масло с различной массовой долей жира (пробы 1–4) располагается в отдельных кластерах (квадранты 2 и 4), маргарина (пробы 5, 6), напротив, располагаются в квадрантах 1 и 3.

Используя данное приложение, очень легко провести аутентификацию (видовая принадлежность) молока (алгоритмы PCA и HCA). На рис. 7 представлены результаты определения вида молока по графикам PCA и HCA. Как видно, каждый вид молока располагается в отдельных квадрантах и кластерах.

Использование частичной регрессии метода наименьших квадратов (алгоритм PLS) для определения массовой доли жира. В этом случае для анализа использовали градуировочные зависимости концентраций стандартных образцов от предсказанных (рассчитанных методом PLS). На рис. 8 показана последовательность операций при работе с данным алгоритмом в PhotoMetrix PRO. Алгоритм PLS удобно использовать при определении концентрации молочного жира в пробах: задается концентрация, указанная на упаковке, в ответ выдается концентрация, рассчитанная в ходе анализа (OUTPUT SAMP, рис. 8б). С использованием исследуемых проб сливочного масла построены градуировочные зависимости с применением алгоритма PLS (число параллельных определений равно трем). Получена градуировочная зависимость ($y = 0.995x + 0.401$) с коэффициентом детерминации 0.995.

Одномерный анализ (univariate analysis). Одномерный анализ позволяет определить концентрацию по градуировочной зависимости, рассчитанной методом наименьших квадратов по отдельным выбранным цветометрическим каналам R, G, B, H, S, V, L и I (рис. 9). В табл. 1 приведены результаты определения массовой доли жира в молочной продукции с применением многомерного (сливочное масло) и одномерного (кефир, молоко, творог, сметана; по цветовому каналу B анализа. Как видно, относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышает 0.16.

* * *

Продемонстрировано применение УФ-устройств, напечатанных на 3D-принтере, и приложения PhotoMetrix Pro для смартфонов в анализе молочных продуктов (молока питьевого, сметаны, кефира, творога и сливочного масла). Использованы алгоритмы

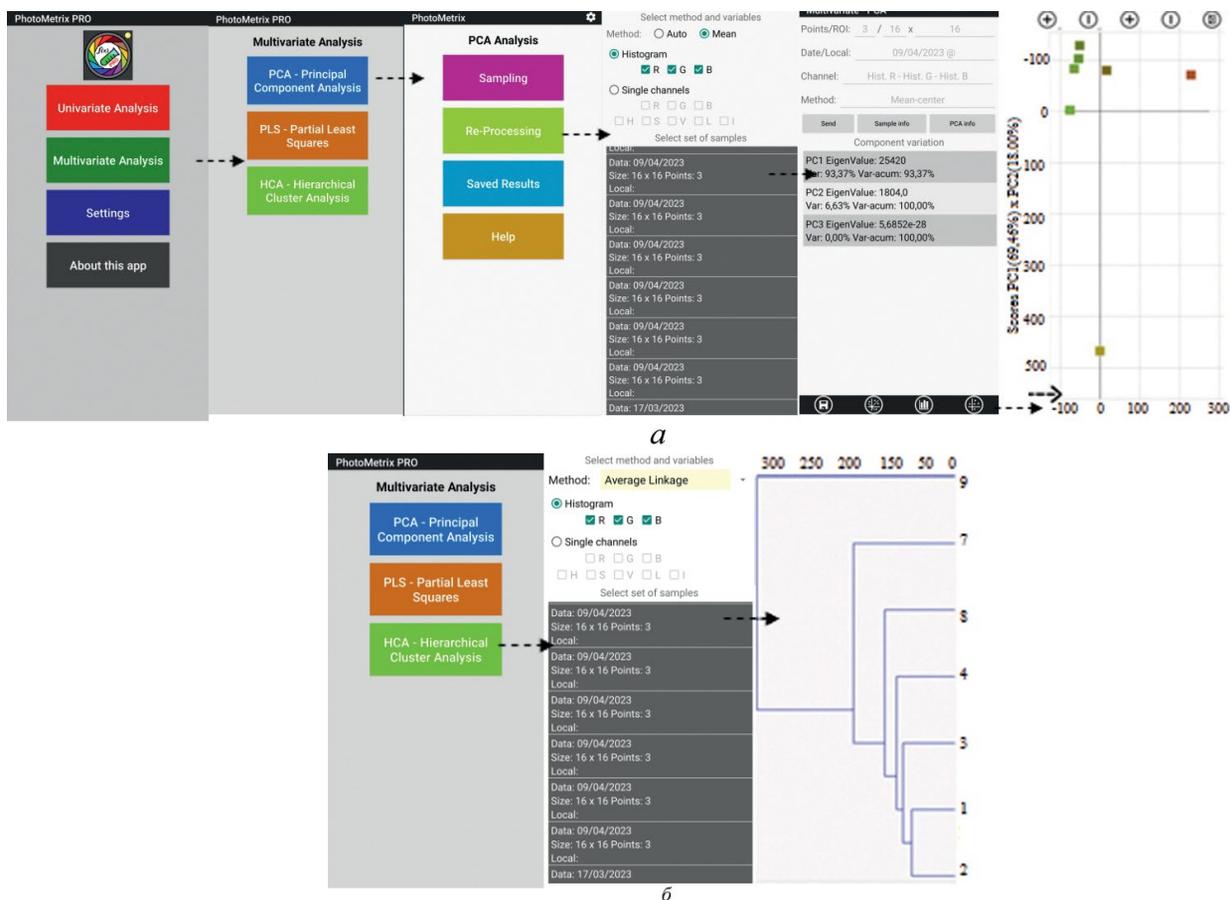


Рис. 5. Использование алгоритмов PCA (а) и HCA (б) в PhotoMetrix PRO при анализе молочных продуктов.

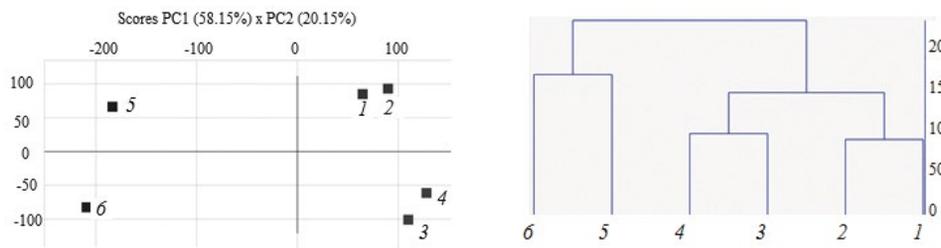


Рис. 6. График PCA и дендрограмма HCA. Масло сливочное: молочный завод “Суздальский” – 61.5% (1), 72.5% (2), 82.5% (3); молочный завод “Судогодский” – 72.5% (4), маргарин “Хозяюшка” – 60% (5), растительно-сливочный продукт “Буренкин луг” – 72.5% (6).

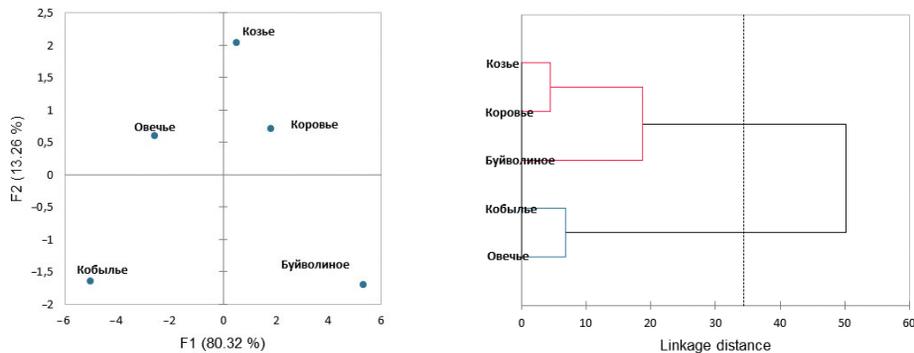
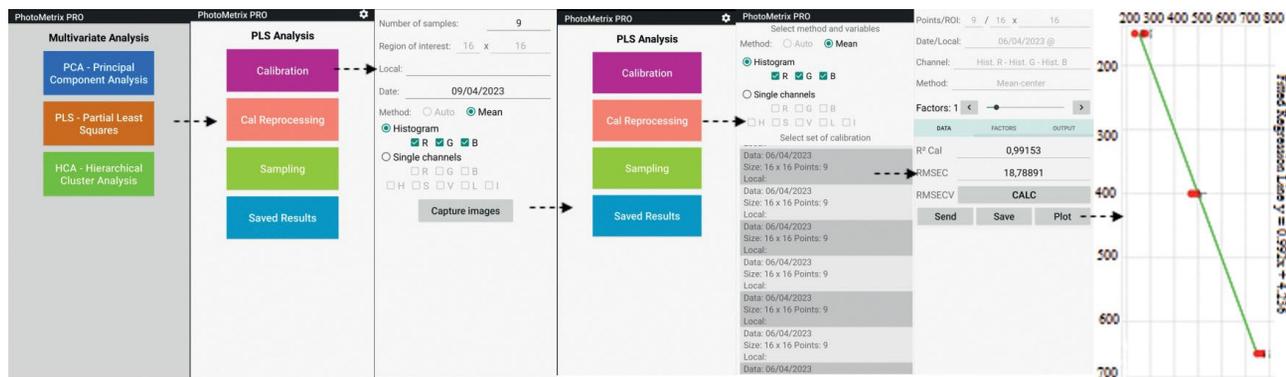
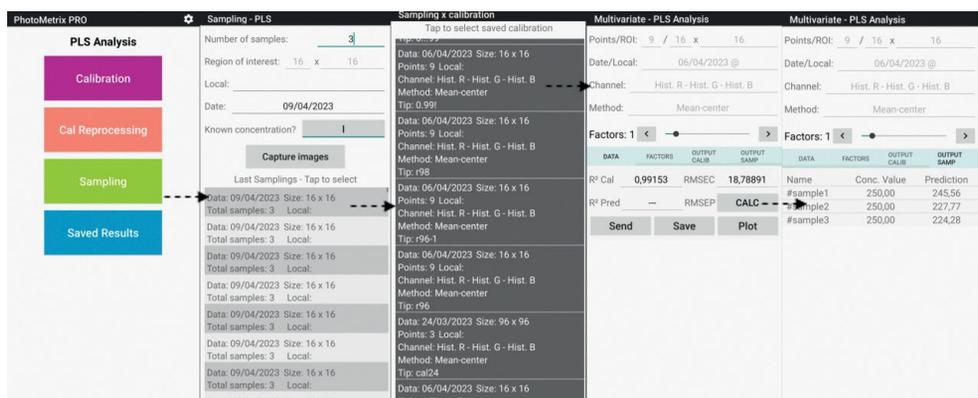


Рис. 7. График PCA для аутентификации молока (а) и дендрограмма HCA (б).

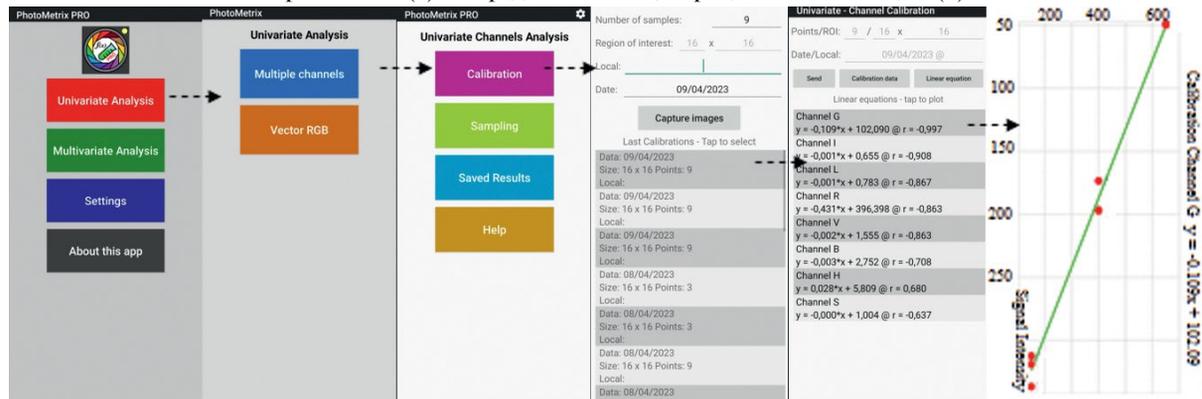


а

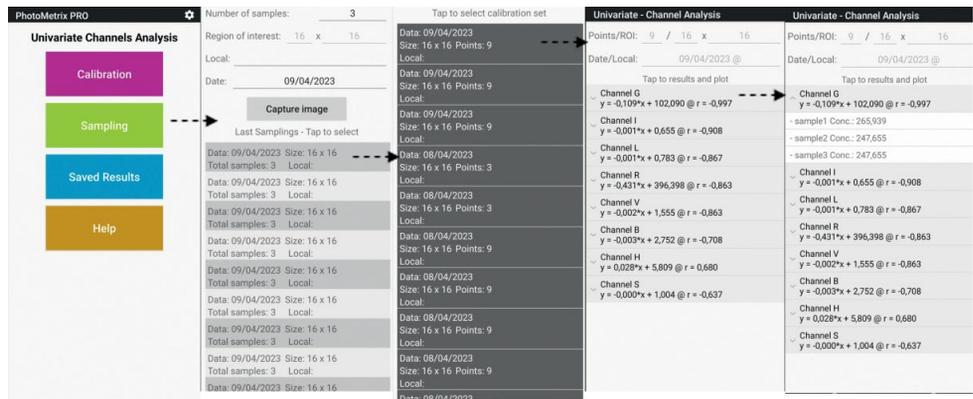


б

Рис. 8. Использование алгоритма PLS (а) и определение концентрации с его помощью (б) в PhotoMetrix PRO.



а



б

Рис. 9. Одномерный анализ в PhotoMetrix PRO. Получение градуировочной зависимости (а) и определение концентрации (б).

Таблица 1. Результаты анализа молочной продукции ($n = 3$, $P = 0.95$)

Продукт	Массовая доля жира, %	Уравнение градуировочной зависимости	R^2	Найдено, %	s_r
Молоко “Суздальское”	1.5	$y = 13.30x + 144.7$	0.994	1.4±0.4	0.07
	2.5			2.6±0.3	0.05
	3.2			3.2±0.3	0.04
	3.7			4.3±0.9	0.12
Кефир “Искренне Ваш”	1	$y = 8.047x + 163.6$	0.994	0.9±0.2	0.14
	2.5			2.2±0.5	0.09
	3.2			3.6±0.8	0.09
Творог “Простоквашино”	2	$y = 5.716x + 148.5$	1.00	2.3±0.5	0.16
	5			4.9±0.6	0.05
	9			9±1	0.05
Сметана “Простоквашино”	10	$y = 3.32x + 120.9$	0.997	11±2	0.09
	15			15±1	0.03
	20			20±1	0.03
	25			26±3	0.05
Сливочное масло, молочные заводы “Суздальский”, “Молградь”	61.5	$y = 0.995x + 0.401$	0.995	60±2	0.02
	72.5			74±4	0.04
	82.5			81±5	0.04
	99.0			99±3	0.03

хеометрики — методы главных компонент, наименьших квадратов, частичной регрессии и иерархический кластерный анализ для определения концентрации молочного жира и установления фактов фальсификации молочных продуктов.

Проводили идентификацию сливочного масла и оценивали видовую принадлежность молока визуально, методами главных компонент и иерархического кластерного анализа. Концентрацию молочного жира в молочных продуктах определяли методами одномерного и многомерного анализа. Относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышало 0.16.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- ГОСТ 32261-2013. Межгосударственный стандарт. Масло сливочное. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2019. 19 с.
- ГОСТ 31452-2012. Межгосударственный стандарт. Сметана. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2013. 8 с.
- ГОСТ Р 52096-2003. Государственный стандарт Российской Федерации. Творог. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2008. 6 с.
- ГОСТ Р 52253-2004. Национальный стандарт Российской Федерации. Масло и паста масляная из коровьего молока. Общие технические условия. М.: Стандартинформ, 2004. 9 с.

5. ГОСТ 31450-2013. Межгосударственный стандарт. Молоко питьевое. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2013. 7 с.
6. ГОСТ 31454-2012. Межгосударственный стандарт. Кефир. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2013. 8 с.
7. *Mohanty T.J., Sahoo J.P., Samal K.C.* Common milk adulteration in India and rapid detection techniques // *Food Sci. Reports.* 2020. V. 1. № 10. P. 59. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.13140/RG.2.2.30007.44963](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.30007.44963)
8. *Zachar P., Soltes M., Kasarda R., Novotny J., Novikmecova M., Marcincakova D.* Analytical methods for the species identification of milk and milk products // *Mljekarstvo.* 2011. V. 3. № 63. P. 199.
9. *Musa M. A., Yang S.* Detection and quantification of cow milk adulteration using portable near-infrared spectroscopy combined with chemometrics // *African J. Agric. Res.* 2020. V. 112. № 2. P. 198. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.5897/ajar2020.15321](https://doi.org/10.5897/ajar2020.15321)
10. *Ullah R., Khan S., Ali H., Bilal M.* Potentiality of using front face fluorescence spectroscopy for quantitative analysis of cow milk adulteration in buffalo milk // *Spectrochim. Acta A.* 2020. V. 225. Article 117518. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1016/j.saa.2019.117518](https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.117518)
11. *Karoui R., Baerdemaeker J.D.* A review of the analytical methods coupled with chemometric tools for the determination of the quality and identity of dairy products // *Food Chem.* 2007. V. 102. P. 621. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1016/j.foodchem.2006.05.042](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.042)
12. *Hosseini E., Ghasemi J.B., Daraei B., Asadi G., Adib N.* Near-Infrared spectroscopy and machine learning-based classification and calibration methods in detection and measurement of anionic surfactant in milk // *J. Food Compos. Anal.* 2021. V. 104. Article 104170. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1016/j.jfca.2021.104170](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104170)
13. *Naktiyok J., Dogan T.H.* A research on the detection of fake butter by traditional and modern methods // *J. Eng. Sci. Design.* 2021. V. 9. № 2. P. 453. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.21923/jesd.790310](https://doi.org/10.21923/jesd.790310)
14. ГОСТ 31663-2012. Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров жирных кислот. М.: Стандартинформ, 2019. 12 с.
15. ГОСТ 31979-2012. Молоко и молочные продукты. Метод обнаружения растительных жиров в жировой фазе газожидкостной хроматографией стерильных. М.: Стандартинформ, 2014. 13 с.
16. *Nurrulhidayah F.A., Rohman A., Salleh R.A., Amin I., Shuhaimi M., Farahwahida M.Y., Rashidi O., Aizat J.M., Khatib A.* Authentication of butter from lard adulteration using high-resolution of nuclear magnetic resonance spectroscopy and high-performance liquid chromatography // *Int. J. Food Properties.* 2017. V. 20. Article 1233428. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1080/10942912.2016.1233428](https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1233428)
17. *Kucheryavskiy S., Melenteva A., Bogomolov A.* Determination of fat and total protein content in milk using conventional digital imaging // *Talanta.* 2014. V. 121. P. 144. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1016/j.talanta.2013.12.055](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.12.055)
18. *Younas M., Maryam A., Khan M., Nawaz A.A., Jaffery S.H.I., Anwar M.N., Ali L.* Parametric analysis of wax printing technique for fabricating microfluidic paper-based analytic devices (μ PAD) for milk adulteration analysis // *Microfluid. Nanofluidics.* 2019. V. 23. Article 38. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1007/s10404-019-2208-z](https://doi.org/10.1007/s10404-019-2208-z)
19. *Govindarajalu A.K., Ponnuchamy M., Sivasamy B., Prabhu M.V., Kapoor A.A.* Cellulosic paper-based sensor for detection of starch contamination in milk // *Bull. Mater. Sci.* 2019. V. 42. Article 255. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1007/s12034-019-1958-2](https://doi.org/10.1007/s12034-019-1958-2)
20. *Iymen G., Tanriver G., Hayirlioglu Y.Z., Ergen O.* Artificial intelligence-based identification of butter variations as a model study for detecting food adulteration // *J. Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 2020. V. 66. Article 102527. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1016/j.ifset.2020.102527](https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102527)
21. *Pereira E.V.S., Fernandes D.D.S., Almeida L.F., Maciel M.S., Dias Diniz P.H.P.* Goat milk authentication by one-class classification of digital image-based fingerprint signatures: Detection of adulteration with cow milk // *Microchem. J.* 2022. V. 180. Article 107640. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1016/j.microc.2022.107640](https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107640)
22. *Моногарова О.В., Осколок К.В., Аняри В.В.* Цветометрия в химическом анализе // *Журн. аналит. химии.* 2018. Т. 73. № 11. С. 857. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1134/S0044450218110063](https://doi.org/10.1134/S0044450218110063)
23. *Шаока З.А.Ч., Большаков Д.С., Амелин В.Г.* Использование смартфона в химическом анализе // *Журн. аналит. химии.* 2023. Т. 78. № 4. С. 317. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.31857/S0044450223030131](https://doi.org/10.31857/S0044450223030131)
24. *Böck F. C., Helfer G. A., da Costa A. B., Dessuy M. B., Ferrao M. F.* PhotoMetrix and colorimetric image analysis using smartphones // *J. Chemometrics.* 2020. V. 34. Article 12. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1002/cem.3251](https://doi.org/10.1002/cem.3251)
25. *Helfer G. A., Magnus V. S., Böck F. C., Teichmann A., Ferrao M. F., da Costa A. B.* PhotoMetrix: An application for univariate calibration and principal components analysis using colorimetry on mobile devices // *J. Braz. Chem. Soc.* 2017. V. 28. № 2. P. 328. DOI: 10.5935/0103-5053.20160182
26. *Rateni G., Dario P., Cavallo F.* Smartphone-based food diagnostic technologies: A review // *Sensors.* 2017. V. 17. P. 1453. DOI: 10.3390/s17061453
27. *Rezazadeh M., Seidi S., Lid M., Pedersen-Bjergaard S., Yamini Y.* The modern role of smartphones in analytical chemistry // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 118. P. 548. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1016/j.trac.2019.06.019](https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.06.019)
28. ГОСТ 5867-90. Межгосударственный стандарт. Молоко и молочные продукты. Методы определения жира. М.: Стандартинформ, 1991. 10 с.

НОВЫЕ КНИГИ ИЗДАТЕЛЬСТВА ELSEVIER

1. *Gerona R.* Detection and Identification of Designer Drugs. Elsevier, 2023. 150 p.
2. Nanomaterials in Environmental Analysis. Eds. Kailasa S.K., Park T.-J., Singhal R.K. Elsevier, 2023. 612 p.
3. Analytical Nebulizers. Fundamentals and Applications. Eds. Canals A., Aguirre M., Ahmadi M. Elsevier, 2023. 292 p.
4. Non-Destructive Material Characterization Methods. Eds. Otsuki A., Jose S., Mohan M., Thomas S. Elsevier, 2023. 916 p.
5. Liquid Chromatography. Fundamentals and Instrumentation. 3rd Ed. Eds. Fanali S., Chankvetadze B., Haddad P., Poole C., Riekkola M.-L. Elsevier, 2023. 884 p.
6. Smartphones for Chemical Analysis: From Proof-of-concept to Analytical Applications. Eds. Nelis J.L. D., Tsagkaris A.S. Elsevier, 2023. 370 p.
7. Airborne Microplastics: Analysis, Fate and Human Health Effects. Ed. by Wang J. Elsevier, 2023. 248 p.
8. Instrumental Thin-Layer Chromatography. 2nd Ed. Ed. Poole C. Elsevier, 2023. 690 p.
9. *Afkhami A., Madrakian T., Ahmadi M.* Analytical Nanochemistry. Elsevier, 2023. 390 p.
10. Electrochemical and Analytical Techniques for Sustainable Corrosion Monitoring. Advances, Challenges and Opportunities. Eds. Aslam J., Verma C., Hussain C.M. Elsevier, 2023. 356 p.
11. Health and Environmental Applications of Biosensing Technologies. Clinical and Allied Health Science Perspective. Eds. Veerapandian M., Joseph J., Marimuthu M. Elsevier, 2023. 440 p.
12. Bioconjugated Materials. Eds. Verma S.K., Das A.K. Elsevier, 2023. 312 p.
13. Metal-organic frameworks in Analytical Sample Preparation and Sensing. Eds. Pino V., Pasán J., Rodríguez M.J.T. Elsevier, 2023. 300 p.
14. *Qu K., Dan D.* Environmental Analytical Chemistry. Elsevier, 2023. 300 p.
15. Isotope Dilution. Ed. Barcelo D. Elsevier, 2023. p. 312.
16. Big Data Analytics in Agriculture. Algorithms and Applications. Eds. Rivastava P., Kumar M.R., Pradhan B., Pandey M. Elsevier, 2023. 350 p.
17. Biosensors in Precision Medicine. From Fundamentals to Future Trends. Eds. Brazaca L., Sempionatto J. Elsevier, 2023. 350 p.
18. Advances in Separation Sciences. Sustainable Processes and Technologies. Eds. Ingole P.G., Hussain C.M. Elsevier, 2023. 500 p.
19. Metal-organic frameworks in Analytical Sample Preparation and Sensing. Eds. Pino V., Pasán J., Rodríguez M.J.T. Elsevier, 2023. 300 p.
20. Ion-Exchange Chromatography and Related Techniques. Eds. Nesterenko P., Poole C., Sun Y. Elsevier, 2023. 530 p.
21. Advances in Environmental Electrochemistry. Eds. Jadhav D., Behera M., Sevda S., Shah M. Elsevier, 2023. 400 p.
22. Novel Nanostructured Materials for Electrochemical Bio-sensing Applications. Ed. Manjunatha J. Elsevier, 2023. 500 p.
23. Nanomaterials-Based Electrochemical Sensors: Properties, Applications and Recent Advances. Eds. Ahmad A., Verpoort F., Khan A., Sanjay M.R., Shafaqat A. Elsevier, 2023. 600 p.
24. Health and Environmental Applications of Biosensing Technologies. Clinical and Allied Health Science Perspective. Murugan Veerapandian. Eds. Joseph J., Marimuthu M, Elsevier, 2023. 450 p.
25. Green Chemistry in Food Analysis. Conventional and Emerging Approaches. Eds. Ul Islam S., Hussain C.M. Elsevier, 2023. 450 p.
26. *Dong Q., Chen X., Huang B.* Data Analysis in Pavement Engineering. Theory and Methodologies. Elsevier, 2023. 205 p.
27. Geospatial Analysis Applied to Mineral Exploration, Remote Sensing, GIS, Geochemical, and Geophysical Applications to Mineral Resources. Eds. Pour A.B., Parsa M., Eldosouky A.M. Elsevier, 2023. 326 p.
28. *Considine J., Frankish E.* A Complete Guide to Quality in Small-Scale Wine Making. Elsevier, 2023. 260 p.
29. *Cox D., Vladescu J.* Statistics for Applied Behavior Analysis Practitioners and Researchers. Elsevier, 2023. 275 p.
30. Photoelectrochemical Bioanalysis. Fundamentals and Emerging Applications. Eds. Altaf M., Ashraf R.S., Sohail M. Elsevier, 2023. 372 p.
31. 2D Materials-Based Electrochemical Sensors. Ed. Rout C. Elsevier, 2023. 432 p.
32. Fundamentals of Sensor Technology. Principles and Novel Designs. Eds. Barhoum A., Altinta Z. Elsevier, 2023. 950 p.
33. *Xu G., Bai D., Liu M., Zivkovic V.* Micro Fluidization. Fundamentals and Applications. Elsevier, 2023. 350 p.
34. Graphene Extraction from Waste. A Sustainable Synthesis Approach for Graphene and Its Derivatives. Eds. Hussain C.M., Srivastav A., Tiwary C., Tour J. Elsevier, 2023. 380 p.
35. Ionic Liquids and Their Application in Green Chemistry. Eds. Siddique J.A., Ahmad A., Jawaid M. Elsevier, 2023. 400 p.
36. Applied Behavior Analysis Advanced Guidebook. A Manual for Professional Practice. 2nd Ed. Ed. Luiselli J. Elsevier, 2023. 486 p.

37. Handbook of Differential Scanning Calorimetry. Techniques, Instrumentation, Inorganic, Organic and Pharmaceutical Substances. Eds. Menczel J., Grebowicz J. Elsevier, 2023. 874 p.
38. Graphene Quantum Dots. Biomedical and Environmental Sustainability Applications. Eds. Oves M., Umar K., Ismail I.M., Ibrahim M. Elsevier, 2023. 272 p.
39. *Salehabadi A., Enhessari M., Ahmad M., Ismail N., Gupta B.* Metal Chalcogenide Biosensors. Fundamentals and Applications. Elsevier, 2023. 214 p.
40. Carbon Nanomaterials and their Nanocomposite-Based Chemiresistive Gas Sensors. Applications, Fabrication and Commercialization. Ed. Dhall S. Elsevier, 2023. 268 p.
41. Gold and Silver Nanoparticles. Synthesis and Applications. Eds. Sahoo S., Hormozi-Nezhad M.R. Elsevier, 2023. 452 p.
42. *Yerpude A., Pawade V., Dhoble S., Koa L.* Lanthanide-Doped Aluminate Phosphors. Synthesis, Properties, and Applications. Elsevier, 2023. 236 p.
43. Big Data Analytics in Chemoinformatics and Bioinformatics. With Applications to Computer-Aided Drug Design, Cancer Biology, Emerging Pathogens and Computational Toxicology. Eds. Basak S., Vračko M. Elsevier, 2023. 502p.

Н.Б. Зоров
Химический факультет МГУ
имени М.В. Ломоносова

ХРОНИКА

НАУЧНЫЕ ЧТЕНИЯ ПАМЯТИ АКАДЕМИКА Ю. А. КАРПОВА



17 февраля 2023 г. в Национальном исследовательском технологическом университете МИСиС прошли научные чтения “Аналитическая химия в науке, образовании и производстве”, посвященные 85-летию со дня рождения академика Ю.А. Карпова.

С приветствием к участникам чтений обратился проректор НИТУ МИСиС д.т.н., проф. М.Р. Фионов, который отметил, что для университета МИСиС деятельность Ю.А. Карпова и созданной им выпускающей кафедры сертификации и аналитического контроля имела и имеет большое значение. Академик Ю.А. Золотов отразил основные вехи биографии Ю.А. Карпова, рассказал о многих десятилетиях активного взаимодействия с ним в Российской академии наук. Особо была подчеркнута роль Ю.А. Карпова в развитии прикладной, производственной аналитики, кратко отмечены основные направления его научной деятельности: определение газов в металлах, аналитический контроль в цветной металлургии, анализ высокочистых веществ, развитие методов анализа редких и благородных металлов, обеспечение качества химического анализа, включая метрологию. Академик К.В. Григорович поделился подробностями начала научной

деятельности Ю.А. Карпова в Институте металлургии им. А.А. Байкова АН СССР, остановился на его выдающейся роли в развитии методов определения газообразующих примесей в металлах и рассмотрел сегодняшнее состояние этого направления, включая фракционный анализ, позволяющий определять форму нахождения аналитов.

Академик М.Ф. Чурбанов передал онлайн сообщение, в котором отметил, что Ю.А. Карпов, начиная с 1970 г., стоял у истоков химии высокочистых веществ, развивал методы анализа этих веществ и активно работал над созданием уникальной коллекции веществ высокой чистоты в ИХВВ РАН.

Д.х.н. В.Б. Барановская отметила, что Ю.А. Карпов более 50 лет отдал Гиредмету. Его деятельность в этом институте началась в 1962 г., под его началом работали известные ученые – д.х.н., проф. В.В. Недлер, д.ф.-м.н., проф. Л.Н. Филимонов, д.х.н., проф. Б.Я. Каплан. При Ю.А. Карпове в Гиредмете были развиты активационный анализ, масс-спектрометрия, определение газов в металлах. Вакуум-экстракционные методы и приборы для их реализации, разработанные под руководством Ю.А. Карпова, нашли широкое применение на

предприятиях нашей страны, внедрены на заводах в Индии, Египте, Болгарии. С 2000 г. под эгидой Ю.А. Карпова функционировала ведущая научная школа “Аналитический контроль, сертификация, стандартизация и метрологическое обеспечение производства редких и драгоценных металлов, высокочистых веществ и полупроводниковых материалов”. О сегодняшнем состоянии дел в Испытательном аналитико-сертификационном центре Гиредмета, созданном Ю.А. Карповым, рассказала его руководитель к.х.н. Е.С. Кошель. Центр, первый аккредитованный в России на соответствие требованиям международной системы ИЛАК–АПЛАК, поддерживает свой высокий статус и признание. Д.х.н., проф. Ф.И. Лобанов рассказал о роли Ю.А. Карпова в повышении точности результатов анализа продаваемого за рубежом золота и других благородных металлов.

На протяжении многих лет в Гиредмете действовал диссертационный совет, эффективность которого во многом определялась именно Ю.А. Карповым. О выдающихся членах диссертационного совета, нестандартном подходе к оценке диссертаций по аналитической химии и успешных защитах ведущих ученых рассказал многолетний член этого совета д.ф.-м.н., проф. М.Н. Филиппов. Исполнительный директор Ассоциации аналитических центров “Аналитика” И.В. Болдырев рассказал о зарождении в России системы аккредитации аналитических лабораторий, предпосылках ее возникновения, потенциале развития и международном признании.

Директор Аналитико-сертификационного центра “Ансертэко” к.х.н. Т.Ю. Алексеева, стоявшая вместе с Ю.А. Карповым у истоков системы сертификации веществ и материалов по химическому составу, описала, как совместно были продуманы и созданы схемы сертификации вторичного сырья, содержащего драгоценные металлы, внедрены методики опробования, не имеющие аналогов и по сей день.

Об основных аспектах деятельности Ю.А. Карпова в МИСиС рассказали заведующая кафедрой сертификации и аналитического контроля к.х.н. В.А. Филичкина и заведующий лабораторией “Разделение и концентрирование в химической диагностике функциональных материалов и объектов окружающей среды” д.х.н. П.С. Федотов. В.А. Филичкина сообщила, как Ю.А. Карпов вместе с ректором МИСиС Ю.С. Карабасовым и сотрудниками кафедры создавали учебные программы, направленные на подготовку специалистов по сертификации материалов на основе методов контроля химического состава, структуры и свойств. В результате кафедра стала выпускающей. В.А. Филичкина также рассказала об успешных выпускниках кафедры и охарактеризовала текущее состояние учебных дел и ближнесрочные перспективы кафедры. По инициативе Ю.А. Карпова на базе кафедры в МИСиС были созданы Отдел стандартизации и метрологического обеспечения, упоминавшаяся лаборатория “Разделение и концентрирование в химической диагностике функциональных материалов и объектов окружающей среды”, а также филиал кафедры в Гиредмете. Д.х.н. П.С. Федотов рассказал что основными направлениями деятельности этой лаборатории стали развитие новых высокоэффективных методов разделения микроэлементов, микро- и наночастиц с использованием сорбционных процессов и проточного фракционирования в поперечном силовом поле; разработка комбинированных методов химической диагностики функциональных дисперсных материалов и объектов окружающей среды.

Участники чтений высказали пожелания о проведении подобных мероприятий в будущем.

*В.Б. Барановская, В.А. Филичкина,
М.Н. Филиппов*