ISSN 0044-4502
Том 79, Номер 3
Март 2024

# ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

НАУКА
1727

# СОДЕРЖАНИЕ

**Том 79, номер 3, 2024**

## ОБЗОРЫ

Возможности и ограничения различных вариантов метода рентгенофлуоресцентного анализа при исследовании химического состава древней керамики
*В. М. Чубаров, Г. В. Пашкова, А. С. Мальцев, М. М. Мухамедова, М. А. Статкус, А. Г. Ревенко* 195

Рекомбиназная полимеразная и петлевая изотермическая амплификация в ДНК-диагностике инфекционных заболеваний
*Л. К. Курбатов, К. Г. Птицын, С. А. Хмелева, С. П. Радько, А. В. Лисица, Е. В. Супрун* 210

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Экспресс-определение некоторых цефалоспоринов с помощью иммобилизованного *пара*-диметиламинобензальдегида
*А. В. Тумская, И. В. Косырева* 229

Влияние химически активных добавок на характер испарения труднолетучих примесей при их дуговом атомно-эмиссионном определении в алюминии и его оксиде
*Н. И. Золотарева, С. С. Гражулене* 237

Скрининг проб и оценка остаточных содержаний 214 лекарственных средств для животных в пищевых продуктах методом хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения
*В. Г. Амелин, О. И. Лаврухина, А. В. Третьяков, И. В. Батов, Л. К. Киш* 244

Определение Cr и Ni в морской воде методом электротермической атомно-абсорбционной спектрометрии высокого разрешения с источником сплошного спектра
*М. Ю. Бурылин, Е. С. Копейко, Е. С. Костюченко* 263

## ПРЕПОДАВАНИЕ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Практикум по аналитической химии для студентов-провизоров факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова: новые подходы и задачи
*О. В. Моногарова* 272

## В НАУЧНОМ СОВЕТЕ РАН ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

47-я Годичная сессия совета 280

Вступительное слово академика Ю.А. Золотова на 47-й Годичной сессии Научного совета РАН по аналитической химии 26 сентября 2023 г. 284

## ХРОНИКА

Л. Н. Галль 286

# CONTENTS

**V. 79, №3, 2024**

## REVIEWS

Possibilities and limitations of various variants of the X-ray fluorescence analysis method in the study of the chemical composition of ancient ceramics
*Chubarov V. M., Pashkova G. V., Maltsev A. S., Mukhamedova M. M., Statkus M. A., Revenko A. G.* 195

Recombinase polymerase and loop isothermal amplification in DNA diagnostics of infectious diseases
*Kurbatov L. K., Ptitsyn K. G., Khmeleva S. A., Radko S. P., Lisitsa A. V., Suprun E. V.* 210

## ORIGINAL ARTICLES

Rapid determination of some cephalosporins using immobilized para-dimethylaminobenzaldehyde
*Tumskaya A. V., Kosyreva I. V.* 229

The influence of chemically active additives on the nature of evaporation of highly volatile substances impurities during their arc atomic emission determination in aluminum and its oxide
*Zolotareva N. I., Grazhulene S. S.* 237

Sample screening and residue assessment of 214 drugs for animals in food products by chromatography-mass spectrometry high resolution
*Amelin V. G., Lavrukhina O. I., Tretyakov A. V., Batov I. V., Kish L. K.* 244

Determination of Cr and Ni in seawater by high-resolution electrothermal atomic absorption spectrometry with a continuous spectrum source
*Burylin M. Yu., Kopeyko E. S., Kostyuchenko E. S.* 263

## TEACHING ANALYTICAL CHEMISTRY

Practical training in analytical chemistry for pharmacist students of the Faculty of Fundamental Medicine, Moscow State University M.V. Lomonosov: new approaches and tasks
*Monogarova O. V.* 272

## AT THE RAS SCIENTIFIC COUNCIL ON ANALYTICAL CHEMISTRY

47th Annual session of the council 280

Opening remarks by Academician Yu.A. Zolotov at the 47th Annual session of the RAS Scientific Council on Analytical Chemistry September 26, 2023 284

## CHRONICLE

L.N. Gall 286

*ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ, 2024, том 79, № 3, с. 195–209*

ОБЗОРЫ

*УДК 543.427.4*

# ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТОВ МЕТОДА РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ДРЕВНЕЙ КЕРАМИКИ

**© 2024 г. В. М. Чубаров[a, b, *], Г. В. Пашкова[a, c], А. С. Мальцев[a], М. М. Мухамедова[a, c], М. А. Статкус[d], А. Г. Ревенко[a]**

[a] *Институт земной коры Сибирского отделения Российской академии наук Лермонтова ул., 128, Иркутск, 664033, Россия*

[b] *Институт геохимии им. А.П. Виноградова Сибирского отделения Российской академии наук Фаворского ул., 1А, Иркутск, 664033, Россия*

[c] *Иркутский государственный университет Карла Маркса ул., 1, Иркутск, 664003, Россия*

[d] *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет Ленинские горы, 1, стр. 3, Москва, 119991, Россия*

** E-mail: chubarov@igc.irk.ru*

Поступила в редакцию 29.04.2023 г.
После доработки 12.08.2023 г.
Принята к публикации 04.09.2023 г.

Представлен обзор публикаций, посвященных применению различных вариантов рентгенофлуоресцентного метода анализа для исследования химического состава древней керамики и глины. Рассмотрены примеры использования стационарных волнодисперсионных и энергодисперсионных рентгенофлуоресцентных спектрометров, портативных рентгеновских анализаторов, спектрометров с поликапиллярной оптикой (микрорентгенофлуоресцентный анализ) и геометрией полного внешнего отражения. Несмотря на то, что аналитическим сигналом во всех случаях является рентгеновская флуоресценция, перечисленные варианты рентгенофлуоресцентного метода отличаются кругом определяемых элементов, способами подготовки проб к анализу и способами расчета концентраций элементов. Представлен также опыт авторов по применению описанных вариантов рентгенофлуоресцентного метода в рамках комплексного исследования археологических материалов эпохи каменного века для исторической реконструкции хозяйственной деятельности населения Байкальской Сибири.

**Ключевые слова:** рентгенофлуоресцентный анализ, пробоподготовка, хемометрика, археология, древняя керамика.

**DOI:** 10.31857/S0044450224030019, **EDN:** vrjtqz

Керамика (от греческого κέραμος — глина), первый искусственный материал, созданный человеком, широко представлена в материалах археологических памятников от неолита до Нового времени. Керамические сосуды и их фрагменты часто являются наиболее массовой и информативной категорией находок, несущих информацию об историко-культурных процессах, связях и традициях, формировавшихся в древних общностях в условиях взаимодействия людей друг с другом и окружающей средой [1].

Определение химического состава древней керамики лежит в основе исследований, направленных на изучение происхождения археологического артефакта (provenance study) и на поиск ответов на следующие вопросы: в каком регионе изготовлен объект и с какой целью; что являлось исходным сырьем, какая была технология изготовления; как этот объект перемещался между людьми? В основе таких исследований лежит поиск взаимосвязи между химическим составом керамики, глины и специальных добавок, используемых для производства гончарных изделий. Состав глины и добавок рассматривается как отражение местных геологических материалов.

При определении химического состава керамики в рамках археологических исследований доминирующая роль принадлежит рентгенофлуоресцентному

методу анализа (**РФА**) в различном аппаратурном исполнении [2—4]. Используются стационарные спектрометры с волновой (**ВД РФА**, WDXRF) или энергетической (**ЭД РФА**, EDXRF) дисперсией, портативные анализаторы (**ПРФА**, pXRF), спектрометры с поликапиллярной оптикой (**микроРФА**, μXRF) и полным внешним отражением (**РФА ПВО**, TXRF). Несмотря на то, что аналитическим сигналом во всех случаях является рентгеновская флуоресценция, перечисленные варианты метода РФА отличаются кругом определяемых элементов, способами подготовки проб и расчета концентраций элементов. Корректная интерпретация результатов определения химического состава артефактов зависит от множества факторов, однако в археологических публикациях часто отсутствует подробное описание применяемых методик, их метрологические характеристики. Как правило, методические подходы к анализу керамики близки к подходам, реализуемым при исследовании геологических объектов, однако керамика имеет свои особенности химического состава и структуры.

Нами в рамках проекта РНФ 19-78-10084 “Комплексное исследование археологических материалов эпохи каменного века с применением аналитических методов для исторической реконструкции хозяйственной деятельности населения Байкальской Сибири” с 2019 г. проводятся исследования химического состава керамики неолита с применением разных вариантов метода РФА [5—8]. В данной статье представлен краткий обзор существующих методик рентгенофлуоресцентного определения химического состава древней керамики и глины, показаны возможности и ограничения различных вариантов метода РФА, а также описан личный опыт авторов по исследованию образцов из коллекций керамических комплексов эпохи неолита разных лет, обнаруженных на археологических памятниках Байкальской Сибири. Представленный обзор, несомненно, будет полезен специалистам в области аналитической химии, так как в настоящее время отсутствуют унифицированные и стандартизованные методики анализа археологических объектов, а также археологам для получения информации о возможностях современных аналитических методов при решении археологических задач.

## ОСОБЕННОСТИ ДРЕВНЕЙ КЕРАМИКИ КАК ОБЪЕКТА ИССЛЕДОВАНИЯ

Керамика представляет собой многокомпонентный материал, химический состав и структура которого зависят от состава исходного сырья, рецепта формовочной массы, технологии изготовления, температуры обжига и др. В состав формовочной массы, используемой для изготовления керамики, помимо глины могут входить различные добавки — песок, шамот, дресва, карбонаты, органические вещества [9, 10]. Размеры непластичных включений могут достигать нескольких миллиметров. В зависимости от строения различают тонкую (мелкозернистую) и грубую (крупнозернистую) керамику.

В процессе раскопок керамика чаще всего фиксируется фрагментами (обломками сосудов) [1]. Одним из важных этапов подготовки образцов к анализу является предварительная очистка внешних поверхностей образца от остатков почв, отложений, солей. Как правило, загрязнения удаляются при консервации керамики после раскопок. Для очистки керамики от плотных наслоений (например, карбонатных корок) ранее применяли агрессивные материалы (кислоты, щелочи), но как показала практика, соляная кислота, например, может разрушать изделие при дальнейшем хранении [11]. В настоящее время используют более мягкие способы очистки, учитывая состояние керамики, ее пористость и температуру обжига. Когда образцы поступают на анализ в лабораторию, их подвергают дополнительному очищению дистиллированной или деионизованной водой, механической чистке щёткой [12]. Очистка этиловым спиртом непосредственно перед проведением анализа также возможна.

Очистка поверхности является важным этапом при подготовке керамики, поскольку некоторые варианты РФА подразумевают недеструктивный анализ, в этом случае качество поверхности может оказывать существенное влияние на точность полученных результатов. Некоторые варианты РФА (микроРФА, ПРФА) могут быть использованы для определения состава покрытия поверхности керамики (глазури, росписи). Однако чаще всего РФА используют для определения валового состава формовочной массы изделия. Для этого важно удалить пигменты, глазури, некерамические отложения в процессе вторичных изменений на внешней поверхности черепка, например с помощью механической чистки абразивными инструментами.

Для проведения валового количественного анализа очищенную керамику гомогенизируют с помощью измельчения. Большинство изделий может быть измельчено в агатовой или фарфоровой ступке вручную. Для твёрдой керамики, например такой как фарфор, рекомендовано использовать

мельницу из карбида кремния или карбида вольфрама [12]. Для объектов, представляющих собой историческую ценность, материал для анализа иногда отбирают, сверля керамику и затем собирая полученный порошок либо отрезая небольшую часть объекта. Например, стандартный протокол для проведения нейтронно-активационного элементного анализа включает в себя отрезание фрагмента из более крупного керамического образца, SiC-шлифование поверхности, промывание в деионизованной воде, высушивание и измельчение в агатовой ступке. Такой способ извлечения пробы может приводить к загрязнению получаемого для анализа порошка: при сверлении с использованием разных типов сверл возможно загрязнение никелем и хромом, а использование агатовой ступки и пестика несет наименьший риск загрязнения [13].

Можно выделить следующие проблемы, возникающие при определении химического состава формовочной массы керамики:

- неоднородность керамики и наличие крупных минеральных включений (особенно для керамики неолита) обусловливают сложность извлечения представительной пробы;
- химический состав керамики, измельченной в порошок, несет усреднённую информацию об элементах, входящих в состав как исходного глинистого сырья, так и добавок (шамота, песка и др.);
- возможно влияние на химический состав керамики вторичных изменений, связанных с длительным нахождением образца в осадочных горизонтах [14]. Вторичные изменения керамики могут приводить к формированию диффузионного профиля изменения концентрации некоторых элементов от поверхности к сердцевине образца. Подобные процессы вторичных изменений дополнительно осложняют как локальный анализ керамики, так и выбор оптимальной навески образца для валового элементного анализа;
- отсутствие стандартных образцов (**СО**) керамики с вариациями химического состава (существует лишь два стандартных образца древней керамики: SARM-69 Ceramic-1 и IAEA-CU-2006-06) затрудняет проведение градуировочных процедур и контроль правильности.

Как объект РФА керамика с точки зрения матричных эффектов близка к некоторым типам осадочных горных пород. Однако введение в керамику других компонентов при ее производстве, например, Pb, Sn, Cu, Co, Mn и др., может приводить к существенному отличию поглощающих характеристик керамики от горных пород. Различия в структуре также важны для РФА, поскольку влияют на точность анализа при исследовании материала без его разрушения. Для теоретических оценок матричных эффектов согласно схеме [15—17] с использованием программы [18] применяли составы керамики (мас. %), взятые из работ [19—21]: 0.09—3.0 $Na_2O$, 0.16—2.0 MgO, 9.60—35.10 $Al_2O_3$, 51.90—77.70 $SiO_2$, 0.10—1.96 $P_2O_5$, 0.36—5.10 $K_2O$, 0.50—9.20 CaO, 0.05—1.76 $TiO_2$, 1.06—9.12 $Fe_2O_3$. Показано, что при близких содержаниях определяемых элементов относительные интенсивности линий могут отличаться на 10—30% (Fe$K\alpha$, Si$K\alpha$ и Ca$K\alpha$) и даже 60% (Ni$K\alpha$). Таким образом, при РФА керамики важно учитывать взаимные влияния элементов, а также различия химического состава и структуры.

Ниже рассмотрен опыт использования метода РФА в различных аппаратурных исполнениях при исследовании керамики.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА КЕРАМИКИ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА

**Стационарные рентгенофлуоресцентные спектрометры** предназначены для анализа в лабораторных условиях с целью получения данных о большом числе элементов с высокой точностью. В отличие от портативных спектрометров, с помощью которых можно анализировать образцы практически любых размеров и с любыми характеристиками поверхности, количественный анализ на стационарных спектрометрах требует стандартизации исследуемого образца, подразумевающей ту или иную степень разрушения, а также использование градуировочных уравнений, построенных с помощью соответствующих образцов сравнения [12]. Кроме того, при анализе керамических образцов важно определение основных элементов, входящих в состав глины — Si, Al, Mg и Na, аналитические линии которых находятся в низкоэнергетической области рентгеновского эмиссионного спектра. В этом случае необходимо иметь возможность работать в вакуумном или гелиевом режиме измерения, что невозможно в полевых условиях при использовании портативных спектрометров.

Наиболее простым, дешевым и доступным способом подготовки проб для РФА является измельчение образца, истирание до требуемого размера

(обычно менее 200 меш) и прессование в таблетку, иногда с добавлением связующих веществ (поливиниловый спирт, целлюлоза, и др.) [22—28]. Обычно для прессования таблетки необходимо от 500 мг порошковой пробы (а при определении элементов в высокоэнергетической области спектра, например, стронция, от нескольких граммов для создания насыщенного слоя), что часто требует полного разрушения образца. Такой способ подготовки не лишен недостатков, в частности, имеется зависимость аналитического сигнала от размера частиц (которая может быть минимизирована тонким истиранием), кроме того, на результаты РФА влияет минералогический состав пробы. В наибольшей степени эти эффекты проявляются для аналитических линий элементов, расположенных в низкоэнергетической части спектра, которые, как отмечено выше, являются основной частью составляющих керамику фаз. Вторая проблема может быть решена использованием соответствующих по химическому и фазовому составу градуировочных образцов, однако, как указано выше, существует всего два СО древней керамики, поэтому для построения градуировочных зависимостей используются СО глин, донных отложений, почв, при этом точность определения макрокомпонентов (например, $SiO_2$) может достигать 2—3 отн. %.

Использование сплавления для подготовки проб позволяет минимизировать эффекты, связанные с присутствием определяемых элементов в различных минеральных фазах и вариациями размеров частиц, и достичь наиболее высокой точности определения основных породообразующих элементов, особенно с малым атомным номером Z (Na, Mg, Al, Si). Обычно при этом используются сравнительно большие навески образца (от 500 мг до нескольких граммов), которые смешивают с боратными флюсами (метаборат лития, тетраборат лития или их смесь) в различных соотношениях (от 1:3 до 1:10). Полученную смесь сплавляют при температуре выше 1000 °С, в результате формируются гомогенизированные стекла. Такой способ позволяет минимизировать влияние размера частиц и фазового состава на аналитический сигнал и использовать градуировочные образцы разнообразного состава, например, горные породы [29—31]. Из-за высокой степени разбавления пробы флюсом существенно снижается чувствительность определения микроэлементов, часто используемых в качестве индикаторов источников сырья при изучении происхождения археологических объектов, тем не менее ряд авторов применяют этот способ для определения большого числа микроэлементов в глинах и керамике (V, Mn, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Rb, Sr, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Ba, La, Ce, Nd, Pb, Th,) при различных степенях разбавления, например 1:6 [19, 32—34] (в случае СО геологических материалов) и 1:10 (для синтетических градуировочных образцов) [35].

Рассмотренные особенности различных способов подготовки проб позволили разработать схему, в рамках которой макросостав (содержания оксидов породообразующих элементов: $Na_2O$, MgO, $Al_2O_3$, $SiO_2$, $P_2O_5$, $K_2O$, CaO, $TiO_2$, MnO, $Fe_2O_3$) определяется из гомогенизированного стекла, а микроэлементы (иногда к ним относят Mn и P) — из спрессованного порошка. Так, в работе [36], посвященной межлабораторному эксперименту по стандартизации методик элементного анализа керамики, описана следующая схема пробоподготовки перед проведением РФА: сплавление (0.3 г порошка керамики и 5.7 г метабората лития) для определения породообразующих оксидов и прессование (5 г порошка со связующим веществом) для определения микроэлементов. Такая схема требует еще большей (в приведенном примере — больше 5 г) массы образца, что при исследованиях уникальных (или небольших по размеру) керамических фрагментов часто является неприемлемым. По этой причине при анализе керамики на стационарных спектрометрах основная тенденция — существенное снижение навески анализируемого материала, что позволяет сохранять уникальные археологические находки, подвергая разрушению с целью дальнейшего анализа лишь их малую часть. При подготовке прессованных таблеток авторы работы [22] использовали всего 100 мг образца, получив результаты, сопоставимые по точности с методикой, использующей 9 г (на примере СО состава геологических материалов, включая глины), а в работе [37] величина исходной навески материала составляла 300 мг. В ряде работ также использовались малые навески (100 мг [38] и 300 мг [24]) для анализа неуплотненных порошков при насыпке в кювету с прозрачным для рентгеновского излучения дном (что не является обычной практикой при возможности прессования, но позволяет использовать порошок для других аналитических исследований). Иногда при подготовке сплавленных стекол навеску снижают до 300 мг [39, 40], 100 мг [25] и даже 11 мг [41, 42].

Наш опыт применения стационарного волнодисперсионного рентгенофлуоресцентного спектрометра S8 Tiger (Bruker, Германия) для исследования неолитической керамики Байкальской Сибири описан в работах [5, 6]. Оборудование

для пробоподготовки и получения спектров установлено в центрах коллективного пользования "Геодинамика и геохронология" ИЗК СО РАН [43] и изотопно-геохимических исследований ИГХ СО РАН [44]. Оба описанных способа подготовки проб применяли с учетом возможности анализа образцов малого размера с помощью оснащения спектрометра специальной коллиматорной маской. Согласно оригинальной методике [45, 46] использовали сплавление 110 мг прокаленной пробы в смеси с 1.1 г метабората лития (соотношение 1:10) при 1050 °С для определения оксидов основных породообразующих элементов. Правильность результатов проверяли с помощью анализа независимыми методами: для определения Na и K применяли метод пламенной атомно-эмиссионной фотометрии (НСАМ № 61-С), для определения Mg, Al, Ca, Mn, Fe — метод атомно-абсорбционной спектрометрии (НСАМ № 172-С), для определения Si, P и Ti — метод спектрофотометрии (НСАМ № 138-Х). Для подготовки прессованных на подложке из борной кислоты таблеток использовали 250—300 мг порошковой пробы, градуировочные зависимости для определения V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr, Y, Zr, Ba и Pb строили с помощью 30 СО состава осадочных горных пород и почв. Полученные метрологические характеристики (оценки случайной составляющей погрешности и правильности) можно найти в работе [5].

**Портативные рентгенофлуоресцентные спектрометры.** Тенденцией последних лет является внедрение в археологические исследования портативных рентгенофлуоресцентных спектрометров для анализа керамических фрагментов без их разрушения при полевых исследованиях, а также при изучении, например, музейных экспонатов, разрушение которых нежелательно [47—51]. Преимуществами такого типа спектрометров являются небольшие размеры с возможностью анализа вне специализированной лаборатории и невысокая стоимость (в сравнении со стационарными спектрометрами). При полевых исследованиях обычно анализируют образцы с минимальной подготовкой, поэтому на точность результатов могут влиять качество обработки образца [52], особенности поверхности и положение спектрометра относительно образца [53], а также неоднородность образца [49, 54]. Принципиальные ограничения аналитических возможностей портативных спектрометров связаны с особенностями конструкции, которая подразумевает анализ образцов на воздухе (в отличие от стационарных спектрометров, которые обычно оборудованы специальными камерами для измерения в вакуумном либо гелиевом режиме). Это ограничивает возможности определения элементов с малыми $Z$ и аналитическими линиями в низкоэнергетической области спектра, флуоресцентное излучение которых поглощается воздухом. Количественный анализ при измерении на воздухе возможен для элементов с $Z > 19$ (K), в то время как основными компонентами керамики являются оксиды элементов с более низкими $Z$ (Na, Mg, Al, Si). Поскольку с увеличением Z глубина проникновения рентгеновского излучения увеличивается, при исследованиях керамики с использованием портативных спектрометров более надежным является определение элементов с более высокими Z и большой толщиной излучающего слоя (Rb, Sr, Zr, Ba), флуоресценция которых менее чувствительна к качеству поверхности [36, 50]. При недеструктивном анализе для расчета содержаний элементов обычно используется способ фундаментальных параметров. При этом встроенное программное обеспечение не всегда позволяет надежно учитывать особенности химического состава керамики и взаимные влияния элементов [52, 55, 56]. Точность такого анализа трудно оценить, поскольку программное обеспечение часто представляет собой "черный ящик" и не подразумевает вмешательство пользователя, поэтому результаты могут рассматриваться только как качественные или приближенно-количественные. Тем не менее такой способ широко используется для первичной сортировки образцов в случаях, когда высокая точность результатов не требуется [36, 57], либо используется метод "отпечатков пальцев" [58]. С другой стороны, в связи с неоднородностью самих фрагментов, а также в целом с вариациями состава образцов из-за особенностей производства невысокая точность такого анализа может существенно искажать результаты археологических исследований [59]. Часто такие исследования требуют привлечения независимого метода, например, широко используемого для исследования керамики нейтронно-активационного анализа [36, 60]. Для получения количественных данных требуется гомогенизация керамики и построение градуировочных уравнений [54, 61]. Такие исследования часто проводятся одновременно с анализом фрагментов с целью оценки точности "бесстандартного" недеструктивного анализа с помощью портативного спектрометра [33, 62].

В работе [47] даны следующие рекомендации для количественного анализа археологической керамики и осадочных пород на портативных спектрометрах: 1) градуировка с использованием

образцов с близкой по составу матрицей, 2) измельчение и прессование, 3) гелиевый режим при определении элементов с малым $Z$, 4) использование фильтров первичного излучения для элементов со средним атомным номером. Однако даже при соблюдении перечисленных условий портативные спектрометры не всегда могут быть использованы для количественного анализа.

Наши исследования химического состава образцов неолитической керамики Байкальской Сибири с использованием портативного энергодисперсионного спектрометра CTX (Bruker, Германия), установленного на геологическом факультете Иркутского государственного университета, показали, что при недеструктивном анализе более информативным является измерение среза фрагмента керамики, которое позволяет избежать влияния вторичных изменений и неровностей поверхности. При этом возможно полуколичественное определение Al, Si, P, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Sr, Zr. Наибольшие значения коэффициентов вариации (>25 отн. %) наблюдаются для P и Mn, что связано с их низкими содержаниями в керамике. При анализе сосудов и черепков без разрушения выбирали поверхность, близкую к плоской и свободную от вторичных изменений, связанных с нахождением образца в осадочных горизонтах. Чтобы учесть неоднородность изделия, измерения проводили в нескольких точках с разных сторон исследуемого образца.

**Рентгенофлуоресцентные спектрометры с полным внешним отражением.** Уровень фона в рентгеновском спектре ограничивает круг определяемых микроэлементов методом РФА, однако в контексте археологических исследований данные о содержаниях микроэлементов могут быть более информативными по сравнению с данными о содержаниях основных элементов. Снизить уровень фона и соответственно пределы обнаружения можно с помощью использования геометрии полного внешнего отражения в РФА-спектрометрах. Преимущества этого варианта РФА заключаются в минимизации матричных эффектов и возможности определения концентрации элементов способом внутреннего стандарта. Другим достоинством метода можно считать возможность анализа очень небольшого количества образца (частицы, навески 10—50 мг), что очень важно для сохранения археологического материала. При этом определяется большой круг элементов от Al до U, в том числе элементы, образующие летучие соединения (S, Cl, As, Se, Br). В настоящее время имеется относительно немного публикаций, посвящённых изучению археологической керамики методом РФА ПВО [6, 51, 63—71].

Методика, основанная на нанесении частиц измельченного материала на подложку-отражатель, предложена для приближенно-количественного анализа керамики [66]. Таким образом, может быть реализован метод “отпечатков пальцев”. Подобный подход успешно применен для анализа испанской кельтиберийской керамики позднего железного века [67], доиспанской керамики венесуэльских статуэток [68] и гватемальских керамических статуэток поселений майя [67]. В некоторых исследованиях [6, 69, 70] предложены методики количественного анализа с подготовкой проб в виде суспензий из тонкоизмельченных образцов керамики [68] и глины [69].

В работе [70] предложено использовать выщелачивание элементов из образцов керамики различными смесями кислот, а также удаление железа с помощью жидкостно-жидкостной экстракции метилизобутилкетоном для устранения спектральных наложений с целью определения легких редкоземельных элементов с высокой точностью. Правильность предложенных методик проверяли с использованием аттестованных СО глины [69, 70]. Однако количественный анализ реальных образцов археологической керамики из разных географических регионов может быть затруднен из-за ее неоднородного строения, разного минерального состава исходного сырья и технологических процессов.

В работах [6, 63] особое внимание уделено методическим вопросам анализа керамики вследствие сложности количественной оценки концентраций элементов из-за размера частиц исследуемого материала и негомогенности анализируемого материала. Для анализа керамики основополагающими являются вопросы пробоотбора и пробоподготовки. Согласно данным работы [63] при приготовлении суспензий средний размер частиц измельченной керамики не должен превышать 10 мкм для количественного анализа. Кислотное разложение различными смесями кислот (HCl, $HNO_3$, HF) не позволяет полностью перевести исследуемый образец в раствор, однако этот способ разложения можно использовать для характеристики глинистой составляющей керамических изделий за счет отделения нерастворимых кислотоустойчивых минералов.

При исследовании неолитической керамики Байкальской Сибири с помощью спектрометров S2 Picofox и S4 T-Star (Bruker, Германия), установленных в центре коллективного пользования “Геодинамика и геохронология” ИЗК СО РАН [43, 72], использовали два способа пробоподготовки, включающих кислотное выщелачивание для

характеристики глинистой составляющей и мокрое измельчение для определения валового химического состава керамики. Методика прошла проверку путем анализа аттестованных СО, сравнением полученных результатов с данными, полученными методами масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и классическим РФА, а также в межлабораторных исследованиях [6]. Показано, что анализ раствора керамики после кислотного разложения позволяет определять Al, K, Ca, Ti, V, Cr, Fe, Ni, Cu, Zn, Ga, Rb, Sr, Y, Ba и Pb и является более информативным для разбивки керамики на группы [7].

**Микрорентгенофлуоресцентный анализ.** Использование оборудования с поликапиллярной оптикой для РФА позволяет проводить измерения в локальной зоне образцов разнообразной формы и размера (от нескольких миллиметров до метра) без их разрушения, что актуально при археологических исследованиях [73, 74], при этом не требуется специальная подготовка проб (кроме обработки поверхности [75]). Возможности локального анализа с разрешением до 20 мкм позволяют в случае исследования керамики отдельно изучать состав глиняной матрицы и включений, а также анализировать различные слои глазури, пигментов и керамической основы [76—78]. Например, в работе [77] удалось различить четыре разновидности черных пигментов, использовавшихся в керамике бронзового века, обнаруженной на территории современного Ирана.

Получение точных результатов для неоднородных материалов требует многократных измерений [76], что делает способ неоптимальным для рутинного анализа. Количественное определение макросостава образца методом микроРФА возможно только для гомогенного образца [79] и с использованием СО [80] при условии соответствия размера частиц градуировочных и анализируемых образцов [81]. Часто метод микроРФА применяется для качественного анализа [82] либо для классификации образцов в комбинации с хемометрическими подходами [83, 84]. Такой подход позволяет проводить анализ большого числа образцов без подготовки с целью выбора образцов для дальнейшего количественного анализа другими методами (масс-спектрометрия, нейтронно-активационный анализ) либо на стационарных рентгенофлуоресцентных спектрометрах, а также в комбинации с методом рентгеновской порошковой дифрактометрии для характеристики фазового состава [85]. В ряде случаев также применяются портативные варианты микро-РФА-спектрометров [86, 87].

Особый интерес представляет проведение картирования керамических образцов с помощью микроРФА. В этом случае можно получить информацию о неоднородности образца (после соответствующей подготовки поверхности) [83, 88, 89]. В работе [83] предложен алгоритм раздельного количественного анализа глиняной пасты и минеральных включений. Ограничение предложенного подхода — необходимость использования синхротронного источника первичного рентгеновского излучения.

Применение микрорентгенофлуоресцентного спектрометра M4 Tornado (Bruker, Германия), установленного на химическом факультете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, в исследованиях неолитической керамики Байкальской Сибири позволило нам получить карты распределения элементов по срезам керамических фрагментов с разрешением до 25 мкм и изучить химический состав минеральных включений. Эти результаты использованы для изучения неоднородности керамики. Так, с помощью микроРФА обнаружены вторичные изменения распределения Ca и P, а также минеральные включения с высоким содержанием марганца. Данные микроРФА хорошо согласуются с данными, полученными с помощью сканирующего электронного микроскопа, оснащенного энергодисперсионной приставкой [8].

**Использование хемометрики для изучения происхождения керамики.** Одним из наиболее популярных подходов к изучению происхождения археологических объектов является определение химического состава материала и его обработка хемометрическими методами. Несмотря на большое количество методов, используемых для анализа керамики, сочетание РФА и методов машинного обучения становится все более распространенным для привязки археологических образцов к конкретным местам происхождения. Эта популярность обусловлена относительной простотой и доступностью РФА, его недеструктивным характером, возможностью проведения в полевых условиях и широким спектром определяемых элементов. Современные хемометрические методы включают в себя методы кластеризации, классификации и многомерной регрессии. Выбор конкретных методов исследования зависит от решаемой задачи. Методы машинного обучения (хемометрические методы в контексте химического анализа) позволяют выявлять сложные и неочевидные корреляции между объектами и их характеристиками в большом объеме данных, предоставляемых РФА [90].

Наиболее простой и распространенный метод, применяемый для изучения происхождения керамики,— кластерный анализ. В некоторых работах представлено совместное использование ЭД РФА и кластерного анализа для исследования археологической керамики Южной Индии [91, 92], а также керамики Бразилии XVII и XIX веков [93] и докалониальной керамики из Мараньяна [94]. Портативный РФА и кластерный анализ использованы для характеристики древнеегипетских глиняных фигурок из Саккары [50] и керамических изделий позднемикенского Каструли (Греция) [95], а также керамики железного века, найденной в западной Польше [96], и коринфских амфор Гелы (Сицилия, Южная Италия) VI—V века до н. э. [97].

Метод главных компонент метод главных компонент (principal component analysis, **PCA**) применен для визуальной классификации образцов керамики по данным, полученным с помощью портативного РФА (керамика среднего голоцена Египта [98], керамика раннесредневековой Южной Тосканы [51], керамика эпохи энеолита (LV—XXX века до н. э.) Турции [99]), ЭД РФА (древняя керамика с бразильского побережья реки Амазонки [100]), ВД РФА (средиземноморская архаическая финикийская и пуническая керамика VIII—VI века до н. э. [101], амфоры Мессины и Милаццо IV—II века до н. э. [102], архаическая и эллинистическая мелкозернистая керамика из археологических раскопок в Мессине, Катании, Лентини и Сиракузах [103]) и РФА ПВО (неолитическая керамика Байкальской Сибири [6], статуэтки из древнего поселения майя Ла-Бланка в Петене, Гватемала [104]).

Наиболее точные хемометрические методы для классификации образцов использованы в работах [105, 106]. В работе [105] оценивается потенциал портативного ЭД РФА и обработки данных с помощью графической кластеризации для оценки происхождения 73 амфор, предназначенных для транспортировки, из археологических раскопок Вольтерры (Италия). Исследование показало пригодность данного подхода, о чем свидетельствует 75.35% правильной классификации. Метод частичных наименьших квадратов (partial least squares, PLS) успешно применен для классификации и поиска различий между двумя очень похожими группами керамики со стоянки Халаско (Мексика) [106]. В работе [107] методы искусственных нейронных сетей (Artificial Neural Network, ANN) и линейного дискриминантного анализа (Linear Discriminant Analysis, LDA) успешно применены в сочетании с данными РФА и рентгеновской порошковой дифрактометрии для привязки происхождения образцов керамики к различным греческим колониям на Сицилии.

В работе [7] предложена комбинация метода РФА ПВО и хемометрических методов (PCA, кластерный анализ методом k-средних, метод опорных векторов (Support Vector Machine, SVM)) для изучения образцов неолитической керамики Байкальской Сибири. Создана база данных образцов керамики, включающая 10 элементов-индикаторов, для последующей классификации по географическому происхождению и типу орнаментации. Это исследование показало, что PCA (рис. 1) не может использоваться в качестве основного метода для целей изучения происхождения, однако может выявить некоторые закономерности в данных.

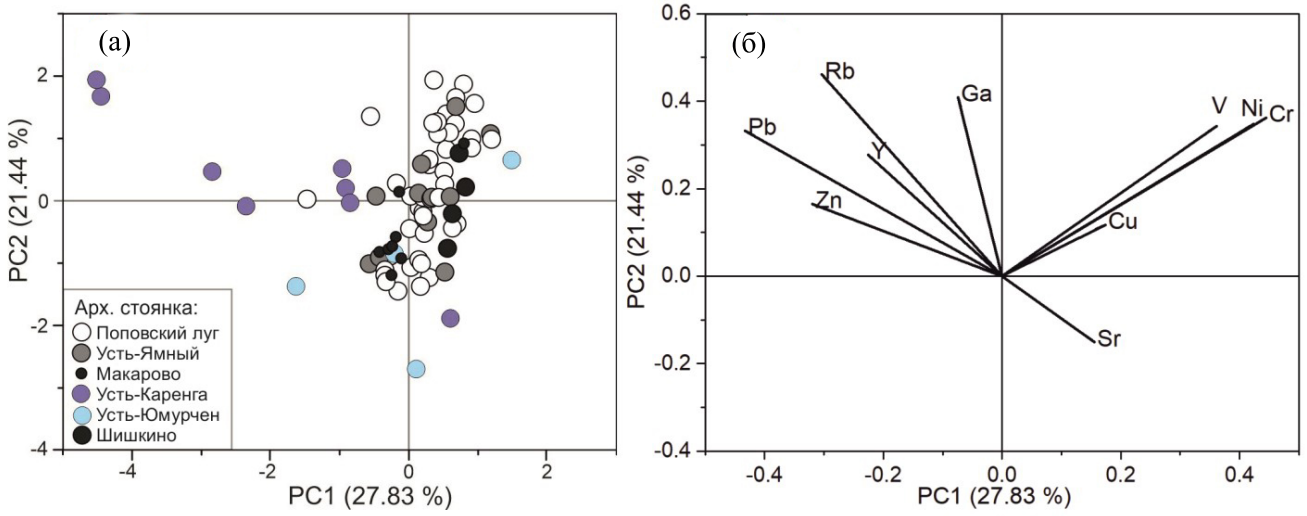


**Рис. 1.** Графики счетов (а) и нагрузок (б), рассчитанные для химического состава образцов керамики по археологической стоянке методом главных компонент.

Методы SVM и кластерного анализа k-средних позволили классифицировать большинство образцов керамики по археологическим стоянкам и типам с высокой точностью. Применение хемометрических методов показало также сходство некоторых образцов, обнаруженных на близко расположенных участках. Методы SVM и кластерного анализа k-средних очень хорошо работают при анализе происхождения керамических образцов (точность более 80%). Исследование показало, что неконтролируемый метод кластеризации, такой как PCA, может использоваться для начальной оценки матрицы, тогда как методы кластерного анализа k-средних или SVM следует применять в качестве основных методов для изучения происхождения образцов.

* * *

Таким образом, изучение химического состава керамики имеет свои методические особенности при использовании различных вариантов РФА. Круг определяемых элементов и точность результатов РФА зависят не только от способа подготовки проб, содержания аналита, градуировочных процедур, но и от используемого оборудования (даже в пределах одного варианта РФА характеристики рентгеновской трубки, система детектирования могут быть различны). С учетом этого в рамках обзора трудно привести конкретные показатели точности определения элементов в разных типах керамики, однако многие из приведенных работ включают сравнение данных метода РФА с данными методов масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, нейтронно-активационного анализа, атомно-абсорбционной спектрометрии и др., результатами анализа стандартных образцов.

На рис. 2 в виде схемы представлен наш опыт использования метода РФА при комплексном исследовании археологических материалов эпохи каменного века для исторической реконструкции хозяйственной деятельности населения Байкальской Сибири: кратко описана методика подготовки проб, а также основные достоинства и ограничения каждого из вариантов. В совокупности с обзором литературы наш опыт позволяет предложить схему анализа керамических фрагментов, включающую определение основного валового химического состава керамики из сплавленных с боратом лития стекол методом ВД РФА или ЭД РФА; определение микроэлементного состава из спрессованных таблеток методом ВД РФА или ЭД РФА либо из суспензий методом РФА ПВО; анализ раствора после кислотного выщелачивания методом РФА

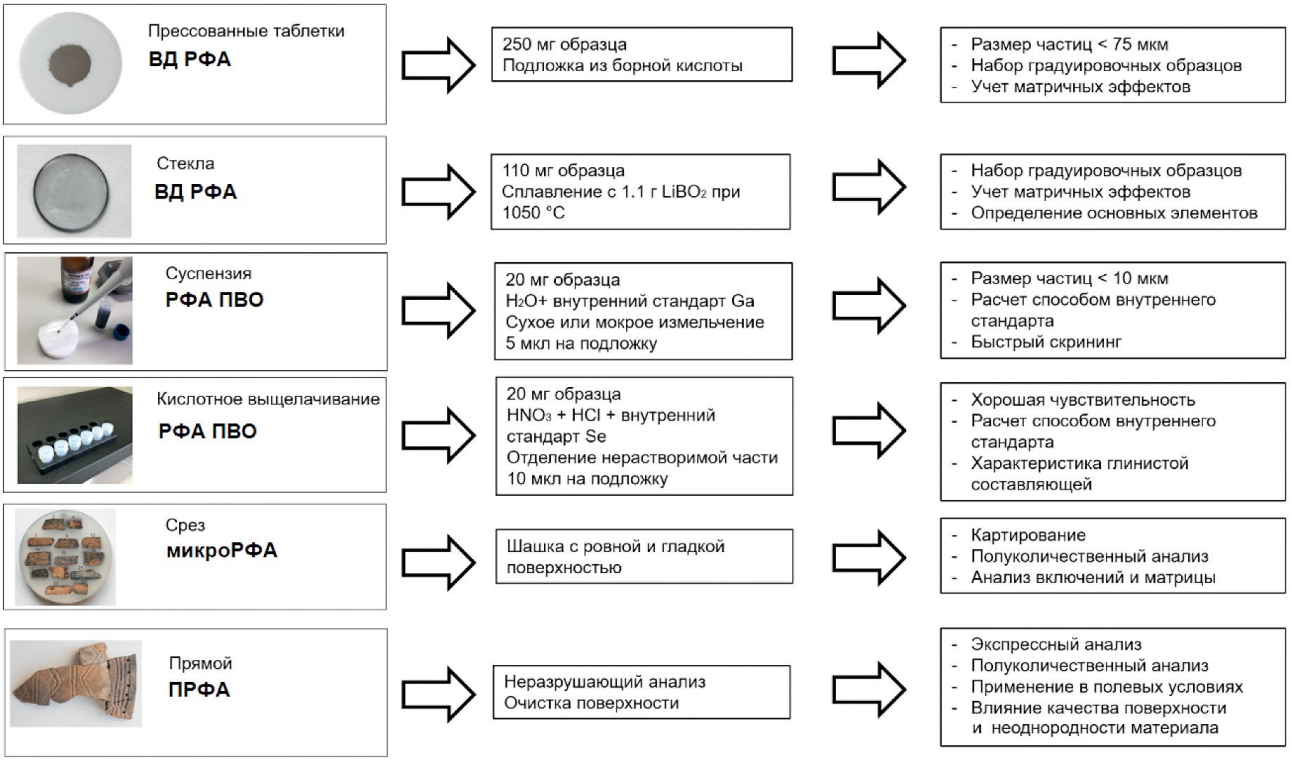


**Рис. 2.** Опыт применения различных вариантов РФА к исследованию химического состава неолитической керамики Байкальской Сибири.

ПВО для характеристики глинистой составляющей; сканирование среза керамики для изучения неоднородности и оценки состава глины в областях, свободных от других минеральных включений методом микроРФА; хемометрическую обработку данных для классификации образцов. Для реконструированных сосудов и керамических фрагментов, которые нельзя разрушать, возможен приближенно-количественный анализ методом ПРФА.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 19-78-10084 (https://rscf.ru/project/19-78-10084/). Образцы керамики со стоянок Байкальской Сибири предоставлены Д.Л. Шергиным.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бердников И.М., Лохов Д.Н.* Керамика в археологии: описание, анализ, методы исследования. Иркутск: Изд-во ИГУ, 2014. 163 с.
2. *Čechák T., Hložek M., Musílek L., Trojek T.* X-ray fluorescence as a tool for investigating archaeological finds // Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. Sect. A. 2007. V. 580. № 1. P. 717. DOI: 10.1016/j.nima.2007.05.133
3. *Ревенко А.Г., Ревенко В.А.* Применение рентгеноспектрального метода анализа для исследования материалов культурного наследия // Методы и объекты химического анализа. 2007. Т. 2. № 1. С. 4.
4. *Цизин Г.И., Золотов Ю.А.* Какие аналитические приборы производят в России? // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 4. С. 369. DOI: 10.31857/S0044450221040137
5. *Пашкова Г.В., Мухамедова М.М., Чубаров В.М., Мальцев А.С., Амосова А.А., Демонтерова Е.И., Михеева Е.А., Шергин Д.Л., Пеллинен В.А.* Сравнительный анализ методик рентгенофлуоресцентного определения элементного состава археологической керамики из малых навесок // Аналитика и контроль. 2021. Т. 25. № 1. С. 20. DOI: 10.15826/analitika.2020.25.1.001
6. *Maltsev A.S., Pashkova G.V., Fernández-Ruiz R., Demonterova E.I., Shuliumova A.N., Umarova N.N., Shergin D.L., Mukhamedova M.M., Chubarov V.M., Mikheeva E.A.* Characterization of archaeological ceramics from eastern Siberia by total-reflection X-ray fluorescence spectrometry and principal component analysis // Spectrochim. Acta B. 2021. V. 175. Article 106012. DOI: 10.1016/j.sab.2020.106012
7. *Maltsev A.S., Umarova N.N., Pashkova G.V., Mukhamedova M.M., Shergin D.L., Panchuk V.V., Kirsanov D.O., Demonterova E.I.* Combination of total-reflection X-ray fluorescence method and chemometric techniques for provenance study of archaeological ceramics // Molecules. 2023. V. 28. № 3. Article 1099. DOI: 10.3390/molecules28031099
8. *Pashkova G.V., Statkus M.A., Mukhamedova M.M., Finkelshtein A.L., Abdrashitova I.V., Belozerova O.Y., Chubarov V.M., Amosova A.A., Maltsev A.S., Demonterova E.I., Shergin D.L.* A workflow for uncertainty assessment in elemental analysis of archaeological ceramics: A case study of neolithic coarse pottery from Eastern Siberia // Heritage. 2023. V. 6. P. 4434. DOI: 10.3390/heritage6050234
9. *Коваль В.Ю.* Первичная фиксация массового керамического материала (на памятниках эпохи Средневековья и раннего железного века лесной зоны Восточной Европы). М.: ИА РАН, 2016. 128 с.
10. *Глушков И.Г.* Керамика как исторический источник. Новосибирск: ИАЭТ СО РАН, 1996. 328 с.
11. *Краснова Т.Н.* Исследование причин разрушения археологической керамики вследствие неквалифицированной реставрации // Журн. ин-та наследия. 2020. Т. 20. № 1. С. 11. DOI: 10.34685/HI.2020.77.73.010
12. *Hall M.* X-ray fluorescence-energy dispersive (ED-XRF) and wavelength dispersive (WD-XRF) spectrometry / The Oxford Handbook of Archaeological Ceramic Analysis / Ed. Hunt A. Oxford University Press, 2016. P. 341. DOI: 10.1093/oxfordhb/9780199681532.013.21
13. *Boulanger M.T., Fehrenbach S.S., Glascock M.D.* Experimental evaluation of sample-extraction methods and the potential for contamination in ceramic specimens // Archaeometry. 2013. V. 55. № 5. P. 880. DOI: 10.1111/j.1475-4754.2012.00706.x
14. *De La Fuente G.A.* Post-depositional chemical alterations in archaeological ceramics: A critical review and implications for their conservation // Boletín del Laboratorio de Petrología y Conservación Cerámica. 2008. V. 1. № 2. P. 21.
15. *Ревенко А.Г.* Рентгеноспектральный флуоресцентный анализ природных материалов. Новосибирск: Наука, 1994. 264 с.
16. *Revenko A.G.* X-ray fluorescence analysis of rocks, soils and sediments // X-Ray Spectrom. 2002. V. 31. № 3. P. 264. DOI: 10.1002/xrs.564
17. *Ревенко А.Г.* Рентгенофлуоресцентный анализ горных пород, почв и донных отложений // Аналитика и контроль. 2002. Т. 6. № 3. С. 231.
18. *Финкельштейн А.Л., Афонин В.П.* Расчёт интенсивности рентгеновской флуоресценции / Методы рентгеноспектрального анализа / Под ред. Лонциха С.В. Новосибирск: Наука, 1986. С. 5.
19. *Klein M., Jesse F., Kasper H.U., Golden A.* Chemical characterization of ancient pottery from Sudan by X-ray fluorescence spectrometry (XRF), electron microprobe analyses (EPMA) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) // Archaeometry. 2004. V. 46. № 3. P. 339. DOI: 10.1111/j.1475-4754.2004.00162.x

20. *Bouquillon A.* Heaven and Earth – 'Madonne col Bambino' and 'Rustiques figulines' // Appl. Phys. A: Mater. Sci. Process. 2004. V. 79. № 2. P. 161. DOI: 10.1007/s00339-004-2507-3

21. *Zhu D., Cheng H.S., Lin J.W., Yang F.J.* PIXE study on the provenance of Chinese ancient porcelain // Nucl. Instr. Methods Phys. Res. B. 2006. V. 249. P. 633. DOI: 10.1016/j.nimb.2006.03.070

22. *Gazulla M.F., Vicente S., Orduña M., Ventura M.J.* Chemical analysis of very small-sized samples by wavelength-dispersive X-ray fluorescence // X-Ray Spectrom. 2012. V. 41. № 3. P. 176. DOI: 10.1002/xrs.2381

23. *Ravisankar R., Naseerutheen A., Raja Annamalai G., Chandrasekaran A., Rajalakshmi A., Kanagasabapathy K.V., Prasad M.V.R., Satpathy K.K.* The analytical investigations of ancient pottery from Kaveripakkam, Vellore dist, Tamilnadu by spectroscopic techniques // Spectrochim. Acta A. 2014. V. 121. P. 457. DOI: 10.1016/j.saa.2013.10.110

24. *De Vleeschouwer F., Renson V., Claeys P., Nys K., Bindler R.* Quantitative WD-XRF calibration for small ceramic samples and their source material // Geoarchaeology. 2011. V. 26. № 3. P. 440. DOI: 10.1002/gea.20353

25. *Moroni B., Conti C.* Technological features of Renaissance pottery from Deruta (Umbria, Italy): An experimental study // Appl. Clay Sci. 2006. V. 33. № 3-4. P. 230. DOI: 10.1016/j.clay.2006.05.002

26. *Fabbri B., Gualtieri S., Mingazzini C., Spadea P., Casadio P., Costantini R., Malisani G.* Archaeometric investigations of sgraffito ceramic tiles (fifteenth-sixteenth centuries) recovered from excavations in Udine (North-East Italy) // Archaeometry. 2000. V. 42. № 2. P. 317. DOI: 10.1111/j.1475-4754.2000.tb00884.x

27. *Hein A., Tsolakidou A., Iliopoulos I., Mommsen H., Buxeda i Garrigós J., Montana G., Kilikoglou V.* Standardisation of elemental analytical techniques applied to provenance studies of archaeological ceramics: an inter laboratory calibration study // Analyst. 2002. V. 127. № 4. P. 542. DOI: 10.1039/B109603F

28. *Орузбаева Г.Т., Касымова М.Т.* Исследования древней и средневековой керамики Кыргызстана рентгенофлюоресцентным анализом // Изв. вузов. Строительство. 2019. № 3. С. 101. DOI: 10.32683/0536-1052-2019-723-3-101-108

29. *Beltrame M., Liberato M., Mirão J., Santos H., Barrulas P., Branco F., Gonçalves L., Candeias A., Schiavon N.* Islamic and post Islamic ceramics from the town of Santarém (Portugal): The continuity of ceramic technology in a transforming society // J. Archaeol. Sci. Rep. 2019. V. 23. P. 910. DOI: 10.1016/j.jasrep.2018.11.029

30. *Georgiou C.D., Sun H.J., McKay C.P., Grintzalis K., Papapostolou I., Zisimopoulos D., Panagiotidis K., Zhang G., Koutsopoulou E., Christidi G.E., Margiolaki I.* Evidence for photochemical production of reactive oxygen species in desert soils // Nat. Commun. 2015. V. 6. № 1. Article 7100. DOI: 10.1038/ncomms8100

31. *Longobucco R.* Determination of major and minor constituents in ceramic materials by X-ray spectrometry // Anal. Chem. 1962. V. 34. P. 1263. DOI: 10.1021/ac60190a021

32. *Müller N.S., Hein A., Georgakopoulou M., Kilikoglou V., Kiriatzi E.* The effect of inter- and intra-source variation: A comparison between WD-XRF and NAA data from Cretan clay deposits // J. Archaeol. Sci. Rep. 2018. V. 21. P. 929. DOI: 10.1016/j.jasrep.2017.09.023

33. *Menne J., Holzheid A., Heilmann C.* Multi-scale measurements of neolithic ceramics – A methodological comparison of portable energy-dispersive XRF, wavelength-dispersive XRF, and microcomputer tomography // Minerals. 2020. V. 10. P. 931. DOI: 10.3390/min10100931

34. *Georgakopoulou M., Hein A., Müller N.S., Kiriatzi E.* Development and calibration of a WDXRF routine applied to provenance studies on archaeological ceramics // X-Ray Spectrom. 2017. V. 46. № 3. P. 186. DOI: 10.1002/xrs.2745

35. *Ichikawa S., Matsumoto T., Nakamura T.* X-ray fluorescence determination using glass bead samples and synthetic calibration standards for reliable routine analyses of ancient pottery // Anal. Methods. 2016. V. 8. № 22. P. 4452. DOI: 10.1039/c6ay01061j

36. *Hein A., Dobosz A., Day P.M., Kilikoglou V.* Portable ED-XRF as a tool for optimizing sampling strategy: The case study of a Hellenistic amphora assemblage from Paphos (Cyprus) // J. Archaeol. Sci. 2021. V. 133. Article 105436. DOI: 10.1016/j.jas.2021.105436

37. *Papachristodoulou C., Oikonomou A., Ioannides K., Gravani K.* A study of ancient pottery by means of X-ray fluorescence spectroscopy, multivariate statistics and mineralogical analysis. // Anal. Chim. Acta. 2006. V. 573–574. P. 347. DOI: 10.1016/j.aca.2006.02.012

38. *Ichikawa S., Nakayama K., Nakamura T.* Loose-powder technique for X-ray fluorescence analysis of ancient pottery using a small (100 mg) powdered sample // X-Ray Spectrom. 2012. V. 41. № 5. P. 288. DOI: 10.1002/xrs.2394

39. *Tsolakidou A., Kilikoglou V.* Comparative analysis of ancient ceramics by neutron activation analysis, inductively coupled plasma-optical-emission spectrometry, inductively coupled plasma-mass spectrometry, and X-ray fluorescence // Anal. Bioanal. Chem. 2002. V. 374. № 3. P.566. DOI: 10.1007/s00216-002-1444-2

40. *Buxeda i Garrigos J., Cau Ontiveros M.A., Kilikoglou V.* Chemical variability in clays and pottery from a traditional cooking pot production village: Testing assumptions in

Pereruela // Archaeometry. 2003. V. 45. № 1. P. 1. DOI: 10.1111/1475-4754.00093

41. *Ichikawa S., Nakamura T.* X-ray fluorescence analysis with micro glass beads using milligram-scale siliceous samples for archeology and geochemistry // Spectrochim. Acta B. 2014. V. 96. P. 40. DOI: 10.1016/j.sab.2014.04.002
42. *Nakayama K., Ichikawa S., Nakamura T.* Glass bead with minimized amount (11 mg) of sample for X-ray fluorescence determination of archaeological ceramics // X-Ray Spectrom. 2011. V. 41. № 1. P. 16. DOI: 10.1002/xrs.1371
43. *Иванов А.В., Демонтерова Е.И., Ревенко А.Г., Шарыгин И.С., Козырева Е.А., Алексеев С.В.* История и современное состояние аналитических исследований в Институте земной коры СО РАН: центр коллективного пользования "Геодинамика и геохронология" // Геодинамика и тектонофизика. 2022. Т. 13. № 2. 0582. DOI: 10.5800/GT-2022-13-2-0582
44. *Скузоватов С.Ю., Белозерова О.Ю., Васильева И.Е., Зарубина О.В., Канева Е.В., Сокольникова Ю.В., Чубаров В.М.* Центр коллективного пользования "Изотопно-геохимических исследований" ИГХ СО РАН: современное состояние методов изучения вещества на микро- и макроуровне // Геодинамика и тектонофизика. 2022. Т. 13. № 2. 0585. DOI: 10.5800/GT-2022-13-2-0585
45. *Амосова А.А., Пантеева С.В., Татаринов В.В., Чубаров В.М., Финкельштейн А.Л.* Рентгенофлуоресцентное определение основных породообразующих элементов из образцов массой 50 и 110 мг // Аналитика и контроль. 2015. Т. 19. № 2. С. 130. DOI: 10.15826/analitika.2015.19.2.009
46. *Amosova A.A., Panteeva S.V., Chubarov V.M., Finkelshtein A.L.* Determination of major elements by wavelength-dispersive X-ray fluorescence spectrometry and trace elements by inductively coupled plasma mass spectrometry in igneous rocks from the same fused sample (110 mg) // Spectrochim. Acta B. 2016. V. 122. P. 62. DOI: 10.1016/j.sab.2016.06.001
47. *Hunt A.M.W., Speakman R.J.* Portable XRF analysis of archaeological sediments and ceramics // J. Archaeol. Sci. 2015. V. 53. P. 626. DOI: 10.1016/j.jas.2014.11.031
48. *Frahm E., Doonan R.C.P.* The technological versus methodological revolution of portable XRF in archaeology // J. Archaeol. Sci. 2013. V. 40. P. 1425. DOI: 10.1016/j.jas.2012.10.013
49. *Frahm E.* Ceramic studies using portable XRF: From experimental tempered ceramics to imports and imitations at Tell Mozan, Syria // J. Archaeol. Sci. 2018. V. 90. P. 12. DOI: 10.1016/j.jas.2017.12.002
50. *Braekmans D., Boschloos V., Hameeuw H., Van der Perre A.* Tracing the provenance of unfired ancient Egyptian clay figurines from Saqqara through non-destructive X-ray fluorescence spectrometry // Microchem. J. 2019. V. 145. P. 1207. DOI: 10.1016/j.microc.2018.12.029
51. *Bonizzoni L., Galli A., Gondola M., Martini M.* Comparison between XRF, TXRF, and PXRF analyses for provenance classification of archaeological bricks // X-Ray Spectrom. 2013. V. 42. № 4. P. 262. DOI: 10.1002/xrs.2465
52. *Speakman R.J., Little N.C., Creel D., Miller M.R., Iñañez J.G.* Sourcing ceramics with portable XRF spectrometers? A comparison with INAA using Mimbres pottery from the American Southwest // J. Archaeol. Sci. 2011. V. 38. P. 3483. DOI: 10.1016/j.jas.2011.08.011
53. *Forster N., Grave P., Vickery N., Kealhofer L.* Non-destructive analysis using PXRF: Methodology and application to archaeological ceramics // X-Ray Spectrom. 2011. V. 40. P. 389. DOI: 10.1002/xrs.1360
54. *Aimers J.J., Farthing D.J., Shugar A.N.* Handheld XRF analysis of Maya ceramics: A pilot study presenting issues related to quantification and calibration / Handheld XRF for Art and Archaeology / Eds. Shugar A.N., Mass J. L. Leuven University Press, 2013. P. 423. DOI: 10.2307/j.ctt9qdzfs.17
55. *Lemière B.* A review of pXRF (field portable X-ray fluorescence) applications for applied geochemistry // J. Geochem. Explor. 2018. V. 188. P. 350. DOI: 10.1016/j.gexplo.2018.02.006
56. *Conrey R.M., Goodman-Elgar M., Bettencourt N., Seyfarth A., Van Hoose A., Wolff J.A.* Calibration of a portable X-ray fluorescence spectrometer in the analysis of archaeological samples using influence coefficients // Geochem.: Explor., Environ., Anal. 2014. V. 14. P. 291. DOI: 10.1144/geochem2013-198
57. *Кабатов С.А., Курочкина С.А., Алибеков С.Я.* Использование естественнонаучных методов для анализа керамики селища Вёжи Костромской области (по археологическим материалам 2015 года) / Археология Подмосковья: материалы научного семинара. Вып. 13 / Под ред. Эгноватовой А.В. М.: ИА РАН, 2017. С. 188.
58. *Ceccarelli L, Rossetti I, Primavesi L, Stoddart S.* Non-destructive method for the identification of ceramic production by portable X-rays Fluorescence (pXRF). A case study of amphorae manufacture in central Italy // J. Archaeol. Sci. Rep. 2016. V. 10. P. 253. DOI: 10.1016/j.jasrep.2016.10.002
59. *Hein A., Kilikoglou V.* Compositional variability of archaeological ceramics in the eastern Mediterranean and implications for the design of provenance studies // J. Archaeol. Sci. Rep. 2017. V. 16. P. 564. DOI: 10.1016/j.jasrep.2017.03.020
60. *LeMoine J.B., Halperin C.T.* Comparing INAA and pXRF analytical methods for ceramics: A case study

with Classic Maya wares // J. Archaeol. Sci. Rep. 2021. V. 36. Article 102819. DOI: 10.1016/j.jasrep.2021.102819

61. *Johnson J.* Accurate measurements of low Z elements in sediments and archaeological ceramics using portable X-ray fluorescence (PXRF) // J. Archaeol. Method Theory. 2012. V. 21. P. 563. DOI: 10.1007/s10816-012-9162-3
62. *Marino M.D., Stoner W.D., Fargher L.F., Glascock M.D.* Comparing three sample preparation techniques for portable X-ray fluorescence: A case study of Coarse Orange ceramic jars, Veracruz, Mexico // J. Archaeol. Sci. Rep. 2022. V. 41. Article 103315. DOI: 10.1016/j.jasrep.2021.103315
63. *García-Heras M., Fernández-Ruiz R., Tornero J.D.* Analysis of archaeological ceramics by TXRF and contrasted with NAA // J. Archaeol. Sci. 1997. V. 24. P. 1003. DOI: 10.1006/jasc.1996.0178
64. *García-Heras M., Blackman M.J., Fernández-Ruiz R., Bishop R.L.* Assessing ceramic compositional data: A comparison of total reflection X-ray fluorescence and instrumental neutron activation analysis on Late Iron Age Spanish Celtiberian ceramics // Archaeometry. 2001. V. 43. P. 325. DOI: 10.1111/1475-4754.00020
65. *Bohus L.S., de Antczak M.M.M., Greaves E.D., Antczak A., Bermudez J., Kasztovszky Z., Poirier T., Simonits A.* Incipient archaeometry in Venezuela: Provenance study of pre-Hispanic pottery figurines // J. Radioanal. Nucl. Chem. 2005. V. 265. P. 247. DOI: 10.1007/s10967-005-0816-4
66. *Fernández-Ruiz R., García-Heras M.* Study of archaeological ceramics by total-reflection X-ray fluorescence spectrometry: Semi-quantitative approach // Spectrochim. Acta B. 2007. V. 62. P. 1123. DOI: 10.1016/j.sab.2007.06.015
67. *Horcajada P., Roldán C., Vidal C., Rodenas I., Carballo J., Murcia S.,. Juanes D.* Archaeometric study of ceramic figurines from the Maya settlement of La Blanca (Petal, Guatemala) // Radiat. Phys. Chem. 2014. V. 97. P. 275. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2013.12.016
68. *Cariati F., Fermo P., Gilardoni S., Galli A., Milazzo M.* A new approach for archaeological ceramics analysis using total reflection X-ray fluorescence spectrometry // Spectrochim. Acta B. 2003. V. 58. P. 177. DOI: 10.1016/s0584-8547(02)00253-7
69. *Allegretta I., Ciasca B., Pizzigallo M.D.R., Lattanzio V.M.T., Terzano R.* A fast method for the chemical analysis of clays by total-reflection X-ray fluorescence spectroscopy (TXRF) // Appl. Clay Sci. 2019. V. 180. Article 105201. DOI: 10.1016/j.clay.2019.105201
70. *Fernández-Ruiz R., García-Heras M.* Analysis of archaeological ceramics by total-reflection X-ray fluorescence: Quantitative approaches // Spectrochim. Acta B. 2008. V. 63. P. 975. DOI: 10.1016/j.sab.2008.06.004
71. *Пономаренко В.О., Сарычев Д.А., Водолажская Л.Н.* Применение рентгенофлуоресцентного анализа для исследования химического состава амфорной керамики // Вестник Южного научного центра РАН. 2012. Т. 8. № 1. С. 9.
72. *Мальцев А.С., Пашкова Г.В.* Применение метода рентгенофлуоресцентной спектрометрии с полным внешним отражением (TXRF) к геологическим объектам: опыт лаборатории TXRF (ЦКП "Геодинамика и геохронология") // Геодинамика и тектонофизика. 2022. Т. 13. № 2. Article 0601. DOI: 10.5800/GT-2022-13-2s-060
73. *Adams F., Adriaens A., Aerts A., De Raedt I., Janssens K., Schaim O.* Micro and surface analysis in art and archaeology // J. Anal. At. Spectrom. 1997. V. 12. P. 257. DOI: 10.1039/A606091I
74. *Pella P.A., Lankosz M.* Highlights of X-ray spectrometry for microanalysis // X-ray Spectrom. 1997. V. 26. P. 327. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4539(199711/12)26:6<327::AID-XRS230>3.0.CO;2-5
75. *Kazakis N.A., Sakalis A.J., Tsiafakis D., Tsirliganis N.C.* Island of andros pottery in argilos? Archaeometric study using μ-XRF and multivariate statistical analisys // Mediterr. Archaeol. Archaeom. 2015. V. 15. № 3. P. 73. DOI: 10.5281/zenodo.18359
76. *Holakooei P., de Lapérouse J.-F., Carò F., Röhrs S., Franke U., Müller-Wiener M., Reiche I.* Non-invasive scientific studies on the provenance and technology of early Islamic ceramics from Afrasiyab and Nishapur // J. Archaeol. Sci. Rep. 2019. V. 24. P. 759. DOI: 10.1016/j.jasrep.2019.02.029
77. *Eftekhari N., Holakooei P., Sayyadshahri H., Vaccaro C.* Four shades of black: Non-invasive scientific studi-es on the painted potteries from Shahr-i Sokhta, eastern Iran // J. Archaeol. Sci. Rep. 2018. V. 22. P. 100. DOI: 10.1016/j.jasrep.2018.09.012
78. *Berthold C., Zimmer K.B., Scharf O., Koch-Brinkmann U., Bente K.* Nondestructive, optical and X-ray analytics with high local resolution on ATTIC white-ground lekythoi // J. Archaeol. Sci. Rep. 2017. V. 16. P. 513. DOI: 10.1016/j.jasrep.2016.02.008
79. *Chaves R.C., Lima A., Coroado J., Teixeira A., Vilarigues M., Leal N., Karra A., Monge Soares A.M.* Medieval and early modern ceramics from Azemmour (Morocco)-Textural, mineralogical and chemical analysis // J. Archaeol. Sci. Rep. 2018. V. 21. P. 1152. DOI: 10.1016/j.jasrep.2017.10.037
80. *Demirsar Arli B., Simsek Franci G., Kaya S., Arli H., Colomban P.* Portable X-ray fluorescence (p-XRF) uncertainty estimation for glazed ceramic analysis: Case of Iznik tiles // Heritage. 2020. V. 3. P. 130. DOI: 10.3390/heritage3040072
81. *Papadopoulou D.N., Zachariadis G.A., Anthemidis A.N., Tsirliganis N.C., Stratis J.A.* Comparison of a

portable micro-X-ray fluorescence spectrometry with inductively coupled plasma atomic emission spectrometry for the ancient ceramics analysis // Spectrochim. Acta B. 2004. V. 59. № 12. P. 1877. DOI: 10.1016/j.sab.2004.09.001

82. *Papadopoulou D., Sakalis A., Merousis N., Tsirliganis N.C.* Study of decorated archeological ceramics by micro X-ray fluorescence spectroscopy // Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A. 2007. V. 580. № 1. P. 743.
83. *Flewett S., Saintenoy T., Sepulveda M., Mosso E.F., Robles C., Vega K., Gutierrez S., Romero A., Finney L., Maxey E., Vogt S.* Micro x-ray fluorescence study of late pre-Hispanic ceramics from the western slopes of the South Central Andes region in the Arica y Parinacota region, Chile: A new methodological approach // Appl. Spectrosc. 2016. V. 70. № 10. P. 1759. DOI: 10.1177/0003702816654153
84. *Sakalis A.J., Kazakis N.A., Merousis N., Tsirliganis N.C.* Study of Neolithic pottery from Polyplatanos (Imathia) using micro X-ray fluorescence spectroscopy, stereoscopic microscopy and multivariate statistical analysis // J. Cult. Herit. 2013. V. 14. № 6. P. 485. DOI: 10.1016/j.culher.2012.11.005
85. *Jaroszewicz J., De Nolf W., Janssens K., Michalski A., Falkenberg G.* Advantages of combined μ-XRF and μ-XRD for phase characterization of Ti–B–C ceramics compared with conventional X-ray diffraction // Anal. Bioanal. Chem. 2008. V. 391. P. 1129. DOI: 10.1007/s00216-008-2097-6
86. *Papadopoulou D., Zachariadis G., Anthemidis A., Tsirliganis N., Stratis J.* Development and optimisation of a portable micro-XRF method for in situ multi-element analysis of ancient ceramics // Talanta. 2006. V. 68. P. 1692. DOI: 10.1016/j.talanta.2005.08.051
87. *Machado A.S., Oliveira D.F., Gama Filho H.S., Latini R., Bellido A.V.B., Assis J.T., Anjos M.J., Lopes R.T.* Archeological ceramic artifacts characterization through computed microtomography and X-ray fluorescence // X-Ray Spectrom. 2017. V. 46. P. 427. DOI: 10.1002/xrs.2786
88. *González I., Romero-Baena A., Galán E., Miras A., Castilla-Alcántara J.C., Campos P.* Ceramic materials from Cuatrovitas archaelogical site (Spain). A mineralogical and chemical study for determining the provenance and the firing temperature // Appl. Clay Sci. 2018. V. 166. P. 38. DOI:10.1016/j.clay.2018.09.003
89. *Schurr M.R., Donohue P.H., Simonetti A., Dawson E.L.* Multi-element and lead isotope characterization of early nineteenth century pottery sherds from Native American and Euro-American sites // J. Archaeol. Sci. Rep. 2018. V. 20. P. 390. DOI: 10.1016/j.jasrep.2018.05.014
90. *Panchuk V., Yaroshenko I., Legin A., Semenov V., Kirsanov D.* Application of chemometric methods to XRF-data – A tutorial review // Anal. Chim. Acta. 2018. V. 1040. P. 19. DOI:10.1016/j.aca.2018.05.023
91. *Seetha D., Velraj G.* Spectroscopic and statistical approach of archaeological artifacts recently excavated from Tamilnadu, South India // Spectrochim. Acta A. 2015. V. 149. P. 59. DOI: 10.1016/j.saa.2015.04.041
92. *Seetha D., Velraj G.* FT-IR, XRD, SEM-EDS, EDXRF and chemometric analyses of archaeological artifacts recently excavated from Chandravalli in Karnataka State, South India // Radiat. Phys. Chem. 2019. V. 162. P. 114. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2019.03.017
93. *Araujo C.S., Appoloni C.R., Ikeoka R.A., Symanski L.C.P.* Study of ceramics from Brazilian slave quarters of the XVIII and XIX centuries by EDXRF and multivariate analysis // Appl. Radiat. Isot. 2022. V. 191. Article 110560. DOI: 10.1016/j.apradiso.2022.110560
94. *Ikeoka R.A., Appoloni C.R., Rizzutto M.A., Bandeira A.M.* Computed Radiography, PIXE and XRF analysis of pre-colonial pottery from Maranhão, Brazil // Microchem. J. 2018. V. 138. P. 384. DOI: 10.1016/j.microc.2017.12.020
95. *Liritzis I., Xanthopoulou V., Palamara E., Papageorgiou I., Iliopoulos I., Zacharias N., Vafiadou A., Karydas A.G.* Characterization and provenance of ceramic artifacts and local clays from Late Mycenaean Kastrouli (Greece) by means of p-XRF screening and statistical analysis // J. Cult. Herit. 2020. V. 46. P. 61. DOI: 10.1016/j.culher.2020.06.004
96. *Jasiewicz J., Niedzielski P., Krueger M., Hildebrandt-Radke I., Michałowski A.* Elemental variability of prehistoric ceramics from postglacial lowlands and its implications for emerging of pottery traditions – an example from the pre-roman iron age // J. Archaeol. Sci. Rep. 2021. V. 39. Article 103177. DOI: 10.1016/j.jasrep.2021.103177
97. *Barone G., Crupi V., Longo F., Majolino D., Mazzoleni P., Spagnolo G., Venuti V., Aquilia E.* Potentiality of non-destructive XRF analysis for the determination of Corinthian B amphorae provenance // X-Ray Spectrom. V. 40. № 5. P. 333. DOI: 10.1002/xrs.1347
98. *Emmitt J.J., McAlister A.J., Phillipps R.S., Holdaway S.J.* Sourcing without sources: Measuring ceramic variability with pXRF // J. Archaeol. Sci. Rep. 2018. V. 17. P. 422. DOI: 10.1016/j.jasrep.2017.11.024
99. *Fornacelli C., Volpi V., Ponta E., Russo L., Briano A., Donati A., Giamello M., Bianchi G.* Grouping ceramic variability with pXRF for pottery trade and trends in early medieval southern tuscany. Preliminary results from the Vetricella case study (Grosseto, Italy) // Appl. Sci. 2021. V. 11. № 24. P. 11859. DOI: 10.3390/app112411859
100. *Ikeoka R.A., Appoloni C.R., Scorzelli R.B., dos Santos E., Rizzutto M.D.A., Bandeira A.M.* Study of

ancient pottery from the Brazilian Amazon Coast by EDXRF, PIXE, XRD, Mössbauer spectroscopy and Computed radiography // Minerals. 2022. V. 12. № 10. P. 1302. DOI: 10.3390/min12101302

101. *Amadori M.L., Del Vais C., Fermo P., Pallante P.* Archaeometric researches on the provenance of Mediterranean Archaic Phoenician and Punic pottery // Environ. Sci. Pollut. Res. 2017. V. 24. № 16. P. 13921. DOI: 10.1007/s11356-016-7065-7

102. *Barone G., Mazzoleni P., Ingoglia C., Vanaria M.G.* Archaeometric evidences of the $4^{th}$–$2^{nd}$ century BC amphorae productions in north eastern Sicily // J. Archaeol. Sci. 2011. V. 38. № 11. P. 3060. DOI: 10.1016/j.jas.2011.07.005

103. *Barone G., Lo Giudice A., Mazzoleni P., Pezzino A., Barilaro D., Crupi V., Triscari, M.* Chemical characterization and statistical multivariate analysis of ancient pottery from Messina, Catania, Lentini and Siracusa (Sicily) // Archaeometry. 2005. V. 47. № 4. P. 745. DOI: 10.1111/j.1475-4754.2005.00230.x

104. *Horcajada P., Roldán C., Vidal C., Rodenas I., Carballo J., Murcia S., Juanes D.* Archaeometric study of ceramic figurines from the Maya settlement of La Blanca (Petal, Guatemala) // Radiat. Phys. Chem. 2014. V. 97. P. 275. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2013.12.016

105. *Odelli E., Palleschi V., Legnaioli S., Cantini F., Raneri S.* Graph clustering and portable X-ray fluorescence: An application for in situ, fast and preliminary classification of transport amphoras // Spectrochim. Acta B. 2020. V. 172. Article 105966. DOI: 10.1016/j.sab.2020.105966

106. *López-García P., Argote-Espino D., Fačevicová K.* Statistical processing of compositional data. The case of ceramic samples from the archaeological site of Xalasco, Tlaxcala, Mexico // J. Archaeol. Sci. Rep. 2018. V. 19. P. 100. DOI: 10.1016/j.jasrep.2018.02.023

107. *Barone G., Mazzoleni P., Spagnolo G.V., Raneri S.* Artificial neural network for the provenance study of archaeological ceramics using clay sediment database // J. Cult. Herit. 2019. V. 38. P. 147. DOI:10.1016/j.culher.2019.02.004

*ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ, 2024, том 79, № 3, с. 210–228*

ОБЗОРЫ

*УДК 543.9*

# РЕКОМБИНАЗНАЯ ПОЛИМЕРАЗНАЯ И ПЕТЛЕВАЯ ИЗОТЕРМИЧЕСКАЯ АМПЛИФИКАЦИЯ В ДНК-ДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

**© 2024 г. Л. К. Курбатов[a], К. Г. Птицын[a], С. А. Хмелева[a], С. П. Радько[a], А. В. Лисица[a, b], Е. В. Супрун[a, c, *]**

[a] *Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича ул. Погодинская, 10, стр. 8, Москва, 119121, Россия*
[b] *Тюменский государственный университет ул. Володарского, 6, Тюмень, 625003, Россия*
[c] *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет Ленинские горы, 1, стр. 3, ГСП-1, Москва, 119991, Россия*
** E-mail: lenasuprun@mail.ru*

Поступила в редакцию 02.06.2023 г.
После доработки 17.07.2023 г.
Принята к публикации 27.07.2023 г.

Рекомбиназная полимеразная и петлевая изотермическая амплификация может быть проведена во внелабораторных условиях, что делает эти методы перспективными для разработки экспресс-тестов для ДНК-диагностики инфекционных заболеваний человека, а также сельскохозяйственных животных и растений в формате оказания медицинской помощи на месте (англ. “point-of-care” testing) или полевой детекции (англ. “in-field” detection). В обзоре рассмотрены основные принципы, на которых основаны данные методы, а также их современное состояние с акцентом на неинструментальные методы регистрации результата изотермической амплификации с помощью колориметрии и иммунохроматографических тест-полосок. Подробно освещены подходы к повышению селективности изотермической амплификации путём её объединения с CRISPR/Cas-детекцией или путём объединения двух методов по принципу гнездовой амплификации.

**Ключевые слова:** ДНК-диагностика, инфекционное заболевание, изотермическая амплификация, CRISPR/Cas-нуклеаза, неинструментальный метод анализа.

**DOI:** 10.31857/S0044450224030025, **EDN:** vrjshp

Современная ДНК-диагностика представлена широким спектром методов анализа образцов генетического материала и может быть разделена на молекулярно-генетическую ДНК-диагностику, которая сфокусирована на идентификации индивидуальных геномов (например, диагностика наследственных заболеваний), и ДНК-диагностику инфекционных заболеваний, нацеленную на выявление в образцах различного происхождения (биомедицинские, сельскохозяйственные, из окружающей среды и т. п.) патогенных микроорганизмов и вирусов [1]. В настоящее время доминирующим методом ДНК-диагностики инфекционных заболеваний является метод на основе полимеразной цепной реакции (**ПЦР**), изобретённой Кэри Муллисом 40 лет назад [2] и получивший широкое распространение в рутинной практике клинических и санитарно-эпидемиологических лабораторий [3]. В последние десятилетия наблюдается растущий интерес к децентрализации ДНК-диагностики — проведению тестирования вне специализированных ПЦР-лабораторий в формате так называемого тестирования “у постели больного” (“point-of-care” testing) [4], получившего дополнительный импульс к развитию в рамках борьбы с пандемией COVID-19 [5, 6]. Хотя выражение “point-of-care” testing является доминирующим в современной литературе для обозначения внелабораторной ДНК-диагностики, в рамках данного обзора мы будем использовать термин “point-of-need” testing (**PONT)** [7] как более корректный. Действительно, децентрализация

ДНК-диагностики также представляет интерес для сельского хозяйства и пищевой индустрии, поскольку позволяет оперативно выявлять инфекционные агенты, вызывающие заболевания растений и животных, или загрязнения продукции [4, 7, 8].

ПЦР-анализ, вне всякого сомнения, остаётся золотым стандартом ДНК-диагностики, поэтому одним из направлений его развития в формате PONT является создание мобильных автономных систем для проведения анализа во внелабораторных условиях [9, 10]. Однако такие аналитические системы всё ещё нуждаются в достаточно сложном и дорогостоящем оборудовании. Альтернативный подход, который можно отнести к развитию неинструментальных методов ДНК-диагностики, основан на использовании изотермической амплификации нуклеиновых кислот [11, 12]. В отличие от ПЦР, которая требует многократного контролируемого циклического изменения температуры в ходе протекания реакции, изотермическая амплификация идет при постоянной температуре, тем самым значительно снижая техническую сложность необходимого оборудования, что делает её привлекательным технологическим направлением развития ДНК-диагностики в формате PONT [6, 8, 11—13]. В настоящее время для обнаружения инфекционных агентов разработаны различные методы изотермической амплификации ДНК [11—13], среди которых на практике наиболее широкое распространение получила петлевая изотермическая амплификация (англ. loop-mediated isothermal amplification, **LAMP**) [14]. Среди методов изотермической амплификации можно выделить и рекомбиназную полимеразную амплификацию (англ. recombinase polymerase amplification, **RPA**) [11, 15], интерес к которой в последние годы резко вырос. Так, поиск в базе научных публикаций PubMed (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov) по словосочетанию recombinase polymerase amplification показал более чем 4-кратный рост числа публикаций, относящихся к использованию RPA, за последние пять лет (с 220 до 1006).

В целом изотермическая амплификация, включая LAMP и RPA, имеет меньшую селективность по сравнению с ПЦР, особенно если ПЦР проводят в формате TaqMan [15]. В ходе изотермической амплификации ДНК-мишени (здесь под ДНК-мишенью понимается участок геномной ДНК, ограниченный последовательностями праймеров) наряду с целевыми ампликонами могут синтезироваться в сопоставимых количествах ампликоны, источником которых не является последовательность ДНК-мишени (например, другие участки генома детектируемого микроорганизма или вируса, геномов других микроорганизмов и вирусов, присутствующих в образце, участки генома инфицированного организма), что может приводить к ложноположительным результатам. Очевидно, что выбор ДНК-мишени и праймеров является фактором, в наибольшей степени определяющим селективность амплификации. Несмотря на наличие компьютерных программ для дизайна праймеров для LAMP [16, 17] и RPA [18], подбор праймеров, обеспечивающих желаемую селективность изотермической амплификации, требует их экспериментальной проверки и остаётся крайне трудоёмким процессом без гарантированного успеха [15]. Как альтернатива в настоящее время наметились два подхода к решению проблемы недостаточной селективности изотермической амплификации. Один из них связан с открытием и введением в исследовательскую практику новых типов РНК-направляемых CRISPR/Cas-нуклеаз (англ. clustered regularly interspaced short palindromic repeats, **CRISPR**; CRISPR associated protein, **Cas**) [19—21]. Примером другого подхода является объединение RPA и LAMP в формате “гнездовой” амплификации [22].

Цель данного обзора — познакомить заинтересованного читателя с принципами RPA и LAMP, форматами наработки ДНК-ампликонов, совместимыми с требованиями PONT, а также подходами к повышению селективности данных методов изотермической амплификации путём их комбинирования с CRISPR/Cas-нуклеазами или объединения по типу “гнездовой” амплификации. В связи со значительным числом публикаций, посвящённых разработке тестов на основе RPA и LAMP для обнаружения инфекционных агентов в формате PONT, их невозможно охватить в единичном обзоре. Только часть опубликованных работ процитирована как иллюстративные примеры основных направлений развития экспресс-ДНК-диагностики инфекционных заболеваний. Вне рамок обзора остались вопросы, связанные с выбором ДНК-мишеней и молекулярным дизайном праймеров для RPA и LAMP, заслуживающие отдельного рассмотрения.

## ПЕТЛЕВАЯ ИЗОТЕРМИЧЕСКАЯ И РЕКОМБИНАЗНАЯ ПОЛИМЕРАЗНАЯ АМПЛИФИКАЦИЯ

Как в случае LAMP, так и при RPA амплификация ДНК осуществляется ДНК-полимеразой, обладающей так называемой цепь-вытесняющей

активностью (англ. strand-displacing DNA polymerase); синтез новой цепи происходит на одной из цепей двухцепочечной ДНК-матрицы (**дцДНК**) с образованием новой дцДНК, при этом вторая цепь не разрушается, а вытесняется, высвобождаясь в раствор в виде полинуклеотида (одноцепочечная ДНК, **оцДНК**), которая также может служить матрицей для синтеза ДНК. Для проведения LAMP достаточно только ДНК-полимеразы с цепь-вытесняющей активностью, в то время как для RPA необходима довольно сложная ферментативная смесь, дополнительно включающая рекомбиназу и белки, специфически связывающиеся с оцДНК (англ. single-stranded DNA binding proteins, **SSB-белки**).

Наряду с ДНК, в качестве мишени может использоваться и комплементарная ДНК (**кДНК**). кДНК получают путём обратной транскрипции *in vitro* (англ. reverse transcription, **RT**) — энзиматического синтеза ревертазой (обратной транскриптазой) оцДНК на РНК-матрице. Это позволяет определять методами LAMP и RPA микроорганизмы, используя специфические для них последовательности транскриптов, а также РНК-вирусы (например, такие как SARS-CoV-2), добавлением обратной транскриптазы в реакционную смесь.

**Рекомбиназная полимеразная амплификация.** Метод RPA предложен в 2006 году группой исследователей под руководством Армса [23] и основан на использовании рекомбиназы UvsX фага T4. Рекомбиназа формирует комплекс с праймером и в присутствии АМФ осуществляет его встраивание в дцДНК на участке, содержащим комплементарную праймеру последовательность, при этом образующийся локально участок оцДНК стабилизируется SSB-белком gp32 фага T4 (рис. 1). После диссоциации комплекса рекомбиназа/ДНК праймер достраивается Bsu-полимеразой с цепь-вытесняющей активностью с использованием одной из цепей ДНК как матрицы. Вновь синтезированная дцДНК и вытесненная цепь выступают как новые матрицы, тем самым обеспечивая экспоненциальную амплификацию ДНК-мишени (рис. 1). Рекомендованный размер ДНК-мишени (и соответственно длина образующихся ампликонов) в RPA лежит в интервале от 100 до 500 пар оснований (**п. о.**) [11, 24]. Амплификация протекает при 37—42 °C, обеспечивая увеличение количества копий ДНК-мишени до $10^9$ раз в течение 20—40 мин (что позволяет обнаружить нескольких копий ДНК-мишени в тест-пробирке при удачном подборе праймеров), и не требует использования какого-либо оборудования [23, 24]. Если в качестве мишени

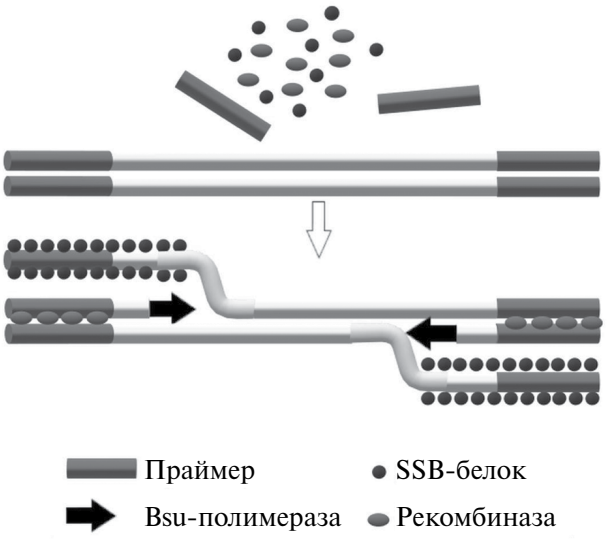


**Рис. 1.** Схематическое изображение рекомбинантной полимеразной амплификации (RPA).

используется кДНК, ревертаза для синтеза кДНК может быть добавлена непосредственно в реакционную смесь (англ. reverse transcription-RPA, **RT-RPA**) [22, 23]. Смесь реагентов для проведения RPA может быть лиофилизирована для целей транспортировки и хранения и регидрирована перед применением [11] с повышением таким образом соответствия RPA требованиям PONT.

В отличие от ПЦР, где длина праймеров составляет 18—25 нуклеотидов (**нт**), рекомендованная длина праймеров в RPA составляет 30—35 нт. Относительно низкая температура проведения амплификации ($\leqslant$ 42 °C) и большая длина праймеров повышают вероятность формирования ими устойчивых димеров, а также “шпилек” внутри праймера, что может снижать эффективность RPA вплоть до её полного ингибирования [11, 24]. Кроме того, рекомбиназа допускает наличие нескольких неспаренных оснований между праймером и комплементарным участком в цепи ДНК [25], что, в свою очередь, может приводить к появлению нецелевых ампликонов. Таким образом, подбор и проверка праймеров, обеспечивающих необходимые эффективность и специфичность RPA, становится крайне время- и ресурсозатратной задачей. Как попытка упростить решение этой проблемы, недавно предложен способ, основанный на использовании праймеров, содержащих модифицированные основания, присутствие которых существенно снижает вероятность формирования праймерами димеров и “шпилек” [26].

**Петлевая изотермическая амплификация.** Метод LAMP разработан в 2000 году Нотоми с соавт.

[27]. В данном методе используют только один фермент — Bst-полимеразу с цепь-вытесняющей активностью, но, в отличие от RPA, не одну, а две пары праймеров, первая из которых обозначается как “внешние” (англ. outer primers), а вторая — “внутренние”(англ. inner primers) [27, 28]. Внутренние праймеры сконструированы определённым образом: с 5'-конца они имеют участок, комплементарный участку ДНК-мишени, а с 3'-конца — участок, чья последовательность идентична последовательности участка ДНК-мишени (рис. 2, шаг 1). Такая конструкция внутренних праймеров в сочетании с внешними и способностью Bst-полимеразы отодвигать цепь ДНК при синтезе новой цепи по ДНК-матрице приводит к формированию гантелеподобных ДНК-структур (рис. 2, шаг 2), которые далее экспоненциально амплифицируются с участием внутренних праймеров и Bst-полимеразы (рис. 2, шаг 3). LAMP проводят при постоянной температуре в интервале 60—65 °С, однако для начала амплификации, в отличие от RPA, необходимо предварительно денатурировать ДНК-матрицу (что достигается прогреванием реакционной смеси при 95 °С в течение 5 мин) для последующего связывания внутренних и внешних праймеров с комплементарными им участками цепей дцДНК при понижении температуры до 60—65 °С [27, 28]. Для обнаружения микроорганизмов по специфическим транскриптам или РНК-вирусов обратная транскрипция должна быть выполнена либо отдельно от LAMP, либо в формате “одной пробирки” непосредственно перед амплификацией (до прогревания LAMP-пробы при 95 °С) внесением в реакционную смесь обратной транскриптазы (англ. reverse transcription LAMP, **RT-LAMP**) [28]. Поскольку для проведения LAMP могут использоваться такие рекомбинантные полимеразы, как Bst-3.0 и OmniAmp, которые обладают ревертазной активностью, детекция РНК-мишени возможна и в формате “одной пробирки” без добавления обратной транскриптазы [29, 30]. Как и в случае RPA, смесь реагентов для LAMP может быть лиофилизована и регидрирована перед использованием [31, 32].

LAMP в большинстве случаев обеспечивает не менее чем $10^9$-кратное увеличение количества копий ДНК-мишени, однако типичное время

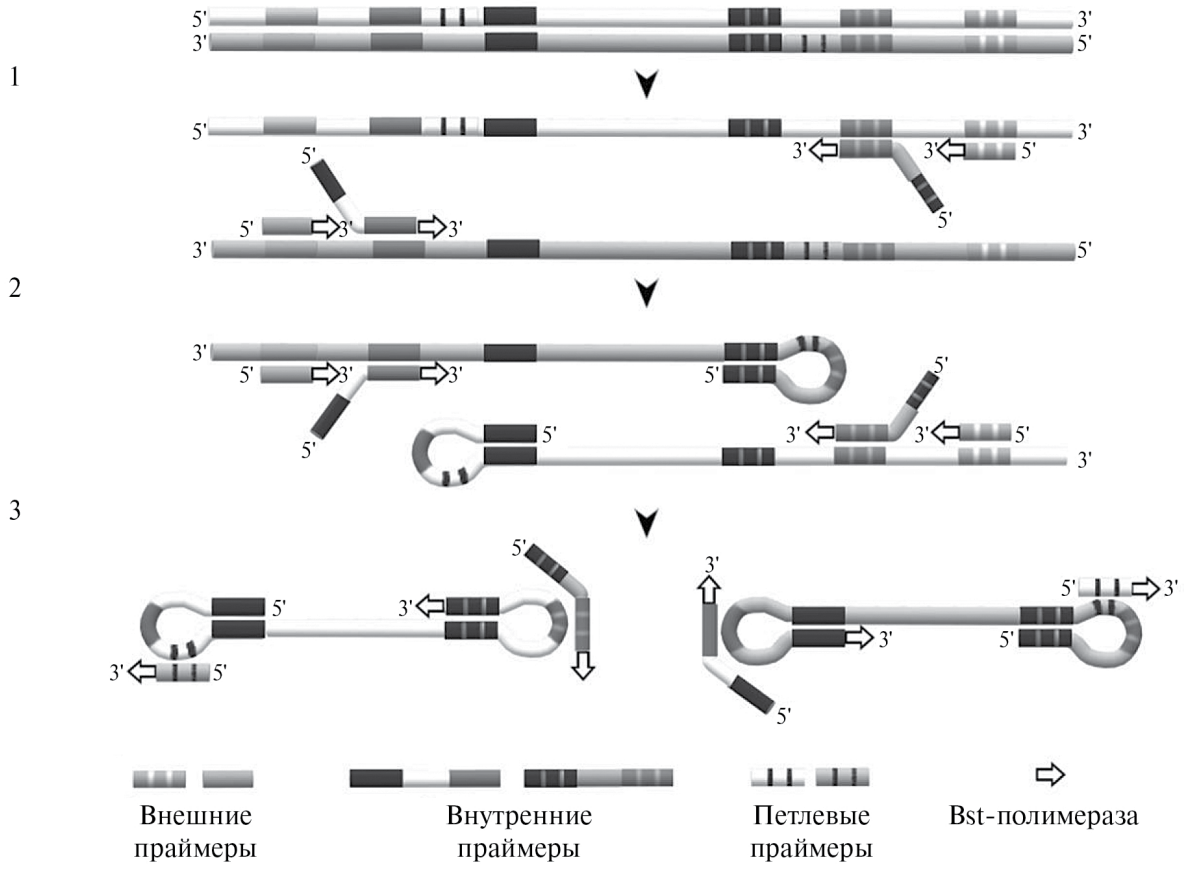


**Рис. 2.** Схематическое изображение петлевой амплификации (LAMP).

реакции амплификации составляет около 1 ч. Для снижения времени реакции Нагамине с соавт. [33] в 2002 году модифицировали метод, дополнительно введя ещё одну пару праймеров (петлевые праймеры), комплементарных последовательностям в петлях гантелеподобных ампликонов (рис. 2, шаг 3). Использование трёх пар праймеров позволило сократить время амплификации практически вдвое [33].

## МЕТОДЫ РЕГИСТРАЦИИ РЕЗУЛЬТАТА ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ

RPA и LAMP характеризуются образованием продукта амплификации в виде фрагментов дцДНК в количестве на порядок превышающем выход стандартной ПЦР [11, 14, 24]. Значительное количество дцДНК позволяет зарегистрировать результат реакции визуально (невооружённым глазом) по изменению цвета красителей, включая такой распространённый флуоресцентный краситель ДНК, как SYBR Green I, широко используемый для наблюдения за протеканием ПЦР в реальном времени [2, 3]. Следует отметить, что слежение за RPA и LAMP в реальном времени также возможно с использованием SYBR Green I, хотя в последнем случае присутствие данного красителя может замедлять реакцию амплификации [24, 34]. В связи с этим LAMP в реальном времени часто проводят с привлечением турбидиметрии (на основе преципитации пирофосфата магния) [35] или специально сконструированных флуоресцентно-меченных праймера и зонда, чья флуоресценция изменяется при встраивании в ампликоны [36]. Однако количественная оценка как мутности, так и интенсивности флуоресценции требует использования довольно сложных аналитических устройств. В данном обзоре упор сделан на регистрацию результата амплификации неинструментальными методами по завершении реакции (по конечной точке, англ. end-point detection) с использованием одноразовых иммунохроматографических тест-полосок (англ. lateral flow assays, **LFA**) [37] или путем фиксации изменения цвета красителя в реакционной пробе невооружённым глазом.

**Колориметрические методы анализа.** Как уже упоминалось выше, такой флуоресцентный интеркалирующий ДНК-краситель, как SYBR Green I, в присутствии большого количества дцДНК изменяет свой цвет с жёлто-оранжевого на жёлто-зелёный [38], что делает возможным визуальную фиксацию результата RPA или LAMP. Однако, несмотря на простоту такого подхода, он характеризуется высоким значением предела обнаружения. Например, в случае обнаружения бактерий *M. tuberculosis* предел обнаружения составил 0.05 нг бактериальной ДНК в RPA-пробе [39], что, исходя из размера генома (~ 4.4 млн п.о. [40]), соответствует около 10 000 бактерий. Когда анализ этих же RPA-образцов проводили с помощью агарозного гель-электрофореза в присутствии флуоресцентного красителя и визуализацией полос ДНК помещением геля на ультрафиолетовый (**УФ**) трансиллюминатор, то предел обнаружения снижался до 0.05 пг бактериальной ДНК в реакционной пробе (около 10 бактерий) [39]. Стоит отметить, что предел обнаружения для прямого (визуального) определения невооружённым глазом при добавлении SYBR Green I в RPA-пробу может быть также существенно снижен при использовании такого простого устройства, как УФ-лампа. Например, проявление окраски пробы при её освещении УФ-лампой позволило идентифицировать бактерии *Yersinia enterocolitica* (вызывают иерсиниоз — острое желудочно-кишечное инфекционное заболевание) с пределом обнаружения в 10 колониеобразующих единиц (**КОЕ**) на RPA-образец [41]. Для LAMP регистрация ДНК-ампликонов по конечной точке реакции без использования какого-либо оборудования, основанная на изменении цвета SYBR Green I, также давно известна [42]. Интересно, что в случае LAMP предел обнаружения ниже, чем для RPA, вероятно, вследствие более высокого выхода ДНК-ампликонов в результате реакции. Например, авторы работы [43] сообщают о пределе обнаружения 10 бактерий *Escherichia coli* на реакцию. Однако из работы [43] неясно, относится ли этот предел к регистрации аналитического сигнала по изменению цвета SYBR Green I при обычном освещении или при освещении УФ-светом, поскольку использовались оба подхода. С другой стороны, предел обнаружения 4—8 паразита на LAMP-образец установлен при определении *Plasmodium knowlesi* (патогенный микроорганизм, вызывающий малярию) по изменению цвета SYBR Green I при обычном освещении [44]. Сравнение различных флуоресцентных красителей — SYBR Green I и шести красителей семейства SYTO — показало, что наиболее эффективным среди них является SYTO-24, использование которого позволило обнаружить бактерию *Salmonella typhimurium* (использовалась как модельный организм) по изменению цвета LAMP-образца при обычном освещении с пределом обнаружения 14 КОЕ на 1 мл крови (бактерии выделены из 1 мл крови с использованием магнитных частиц

с иммобилизованными антителами к сальмонелле) [45]. Из других распространённых флуоресцентных интеркалирующих ДНК-красителей, которые применялись для регистрации результата LAMP, можно отметить пропидий йодид [43] и PicoGreen [46, 47]. Однако предел обнаружения при их использовании был выше 100 000 патогенов в реакционной пробе.

Присоединение нуклеотида к растущей цепи ДНК-полимеразой сопровождается образованием побочного продукта — пирофосфата [48], который, как упоминалось выше, при взаимодействии с ионами магния образует нерастворимую соль [35]. Однако регистрация образования пирофосфата магния по изменению мутности пробы невооружённым глазом затруднительна [49]. В связи с этим предложен другой подход, основанный на использовании колориметрических металлоиндикаторов, которые конкурируют за ионы металлов с пирофосфатом. Один из первых металлоиндикаторов, использованных для фиксирования результата LAMP,— кальцеин (флуорексон), который вместе с хлоридом марганца вносили в LAMP-пробу до начала реакции (конечная концентрация ионов марганца составляла 1 мМ) [49]. Успешное прохождение амплификации сопровождалось изменением цвета пробы от желтоватого к изумрудно-зелёному. Этот способ использован для выявления ряда инфекционных вирусных заболеваний у сельскохозяйственных животных и птиц на основе метода LAMP в формате PONT [50]. Например, применительно к бактерии *Plesiomonas shigelloides*, которая вызывает серозно-геморрагическое воспаление кожи у рыб и представляет серьезную угрозу в промышленном рыболовстве, предел обнаружения составил 200 копий ДНК-мишени на реакционную пробу [51]. Наряду с кальцеином, использовали такие колориметрические металлоиндикаторы, как гидроксинафтол синий (hydroxynaphthol blue, **HNB**) и малахитовый зелёный (тетраметил-4,4-диаминотрифенилметан). В случае HNB бесцветная реакционная проба приобретала голубой цвет, при этом были достигнуты пределы обнаружения около 30 и 50 молекул ДНК-мишени на LAMP-образец при определении золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*) и гонококка (*Neisseria gonorrhoeae*) соответственно [52, 53]. Так же как кальцеин и малахитовый зелёный, HNB может быть добавлен в смесь до начала реакции, при этом цвет меняется от фиолетового к голубому при успешном прохождении амплификации. В случае золотистого стафилококка, предел обнаружения с HNB составил 8 копий при использовании очищенной плазмиды, несущей последовательность ДНК-мишени, и 400 КОЕ бактерий на LAMP-образец [54]. Сравнение вариантов анализа с использованием HNB, кальцеина и SYBR Green I (в последнем случае с освещением пробы УФ-лампой) показало, что HNB и SYBR Green I дают существенно более низкий предел обнаружения, чем кальцеин — около 160 копий фала λ на LAMP-пробу против 1600 [55]. Возможно, это связано с тем, что ионы марганца могут снижать эффективность LAMP [56].

В то время как колориметрические металлоиндикаторы относительно часто применяют для регистрации результата LAMP, нам удалось найти только одну публикацию, касающуюся RPA: HNB использовали для идентификации сельскохозяйственного вредителя *Thrips palmi* [57]. Причиной может быть низкая чувствительность определения с использованием металлоиндикаторов из-за недостаточного количества ДНК, синтезируемой в ходе RPA и, соответственно, более низкого количества пирофосфата.

Наряду с образованием пирофосфата, присоединение нуклеотида ДНК-полимеразой сопровождается высвобождением протона, что в случае низкой буферной ёмкости реакционной смеси может привести к заметному изменению значения pH: с начального 8.8 до 6.0—6.5 в конце реакции [56]. Как оказалось, Bst-полимераза, используемая в LAMP, может с приемлемой эффективностью амплифицировать ДНК в буферных растворах с низкой емкостью в широком диапазоне значений pH от 6 до 10 [56]. Это позволило в случае LAMP применить колориметрические pH-индикаторы для регистрации результата реакции. Ряд индикаторов, таких как феноловый красный (фенолсульфофталеин), крезоловый красный (*о*-крезолсульфофталеин), нейтральный красный (3-амино-6-диметиламино-2-метилфеназоний хлорид) и метакрезоловый пурпурный (*м*-крезолсульфофталеин), оказался хорошо совместимым с LAMP [56]. Так, нейтральный красный использовали для обнаружения паразитов *Plasmodium falciparum* и *Plasmodium vivax*, вызывающих малярию (после их выделения из крови больных) с пределом обнаружения от 12 до 18 клеток на LAMP-образец (в зависимости от участка в геноме паразитов, используемого как ДНК-мишень) [58]. Индикатор, добавленный в пробу перед реакцией, изменяет окраску образца с желтой на розовую после успешного завершения амплификации. Крезоловый красный применяли для контроля присутствия спор бактерии *Clostridium tyrobutyricum* (вызывает порчу продукта

в сыроделии) в молоке — цвет пробы менялся от розового к жёлтому, при этом предел обнаружения составил 2 споры на LAMP-образец [59, 60].

Использование колориметрических pH-индикаторов для регистрации результата LAMP коммерциализировано компанией New England Biolabs (Великобритания), которая выпустила набор WarmStart® Colorimetric LAMP 2X Master Mix (DNA & RNA). Набор даёт возможность обнаружить присутствие патогенов методом LAMP за 15—40 мин по изменению цвета пробы от розового к жёлтому. Использование данного набора позволило определить SARS-CoV-2 в формате RT-LAMP с пределом обнаружения, равным 25 копий вируса в реакционной пробе [61].

Таким образом, сегодня существует широкий класс красителей, совместимых с изотермической амплификацией, которые могут быть использованы для неинструментального анализа образцов на содержание инфекционных агентов в формате PONT. При этом можно отметить, что колориметрические металло- и pH-индикаторы используют, как правило, в LAMP, в то время как определение по изменению цвета флуоресцентных красителей — в RPA. Возможность внесения красителя до начала реакции амплификации является значительным преимуществом, поскольку позволяет проводить анализ без вскрытия пробирки с реакционной пробой и, слндовательно, избежать контаминации окружающего пространства продуктами амплификации, таким образом понижается вероятность получения ложноположительного результата.

**Анализ с использованием иммунохроматографических тест-полосок.** LFA основан на перемещении раствора аналита (в данном случае ДНК-ампликонов) через различные зоны пористой полимерной мембраны без помощи внешних сил в результате капиллярного эффекта, аналогично тому, как это происходит в тонкослойной хроматографии [62]. Как правило, ампликоны мечены одновременно флуоресцеином (чаще всего 5(6)-карбоксифлуоресцеином, **FAM**) и биотином, что достигается использованием в амплификации олигонуклеотидных зондов и/или праймеров, конъюгированных с этими молекулами [24, 37]. По окончании амплификации реакционную смесь наносят на впитывающую часть тест-полоски, где она смешивается с находящимися там антителами к FAM, конъюгированными с наночастицами (например, коллоидным золотом), которые используют для усиления окраски. При перемещении по мембране комплексы ампликонов с наночастицами проходят через зону с иммобилизованным биотин-связывающим белком (тест-зона), формируя визуально наблюдаемую полосу красного цвета, и далее через зону с иммобилизованными вторичными антителами, формируя вторую (контрольную) полосу. В случае отсутствия ампликонов формируется только контрольная полоса [24, 37, 62]. Можно отметить, что как альтернатива праймерам/зонду, конъюгированным с биотином и флуоресцеином, ампликоны могут быть помечены этими молекулами с использованием модифицированных нуклеотидов, конъюгатов биотина и флуоресцеина с дезоксинуклеозидтрифосфатами, выступающими в роли субстратов применяемых в RPA и LAMP полимераз [63, 64].

Комбинирование RPA с LFA (RPA-LFA) использовано для определения уровня содержания инфекционных агентов, значимых с точки зрения здравоохранения и сельхозпроизводства, а также для мониторинга состояния окружающей среды [65—67]. При определении вируса гепатита B человека (ДНК-содержащий вирус) методом RPA-LFA предел обнаружения составил 6 копий вируса в реакционной пробе [65]. Применительно к такому РНК-вирусу, как SARS-CoV-2 анализ образцов в формате RT-RPA-LFA характеризовался пределом обнаружения 180 вирионов на RPA-образец (при этом использование очищенной вирусной РНК дало предел обнаружения 13 копий мишени на образец) [68]. Интересно, что размер (длина) генерируемых RPA-ампликонов может изменять эффективность их определения с использованием LFA, по-видимому, по-разному влияя на агрегацию наночастиц золота [69].

Метод LAMP также может быть совмещен с регистрацией результата амплификации с помощью LFA (LAMP-LFA) и показывать при этом значения предела обнаружения, сопоставимые со значениями для RPA-LFA. Так, предел обнаружения вируса SARS-CoV-2 методом RT-LAMP-LFA составил у разных авторов 20 [70] и 30 [71] копий РНК-мишени на реакцию, что сопоставимо со значением для RT-RPA-LFA — 13 копий РНК-мишени SARS-CoV-2 в пробе [68]. Применительно к бактерии *Listeria monocytogenes* предел обнаружения метода LAMP-LFA составил около 100 копий ДНК-мишени в LAMP-пробе [72]. Сопоставление LFA с колориметрическим методом регистрации результата LAMP, а именно: с помощью красителя SYBR Green I, показало, что предел обнаружения в обоих подходах одинаков [73]. Однако в другом исследовании [72] анализ с помощью LFA оказался значительно более чувствительным, чем по варианту с применением SYBR Green I — пределы

обнаружения различались в 100 раз. Представляется наиболее вероятным, что такая разница между двумя способами регистрации результата реакции амплификации связана с использованием различных концентраций красителя, который может влиять на эффективность LAMP.

Анализ образцов в форматах RPA-LFA и LAMP-LFA требует переноса ампликонов из реакционной пробы на тест-полоску, что создаёт потенциальную возможность контаминации окружающего пространства продуктами амплификации, что, в свою очередь, может привести к появлению ложноположительных результатов. В случае LAMP для устранения влияния контаминации на результат анализа предложен способ, аналогичный ранее разработанному для ПЦР [74] и основанный на использовании 2'-дезоксиуридин-5'-трифосфата (**dUTP**) вместо 2'-дезокситимидин-5'-трифосфата (**dTTP**) в реакционной смеси (это также потребовало замены Bst-полимеразы на полимеразу Bst 2.0) [75]. В рамках этого способа в реакционную смесь добавляют урацил-ДНК-гликозилазу (**УДГ**), которая удаляет урацил в ампликонах, попавших в пробу, тем самым блокируя их последующую амплификацию (УДГ в дальнейшем инактивируется при повышении температуры до 60 °С или выше в ходе LAMP) [75].

Таким образом, регистрация результатов RPA и LAMP с помощью LFA характеризуется простотой и достаточно высокой чувствительностью, отвечающими требованиям PONT. Пределы обнаружения RPA-LFA и LAMP-LFA сопоставимы с пределами обнаружения, которые достигаются при использовании колориметрических методов регистрации продуктов амплификаци. Однако, как и в случае колориметрических методов регистрации, LFA не позволяет дифференцировать целевые и нецелевые продукты амплификации, так что селективность теста полностью определяется тем, насколько удачным оказался выбор праймеров.

## КОМБИНИРОВАНИЕ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ С CRISPR/CAS-АНАЛИЗОМ

CRISPR/Cas-нуклеазы являются основой иммунной системы бактерий и архей, обеспечивая их устойчивость к чужеродным генетическим элементам, таким как бактериофаги и плазмиды [76]. Cas-нуклеазы образуют комплексы с направляющей РНК (**нРНК**) — молекулой РНК определенной последовательности, состоящей из участка, ответственного за взаимодействие с Cas-нуклеазой, и участка (спейсер), комплементарного последовательности в мишени (протоспейсер) [19]. Cas-нуклеаза активируется только в том случае, если образуется гетеродуплекс между спейсером и протоспейсером, что *in vivo* приводит к расщеплению последовательности-мишени. Такие CRISPR/Cas-нуклеазы, как Cas12a, Cas12b и Cas13a при активации в условиях *in vitro* приобретают сопутствующую (коллатеральную) активность — способность неселективно расщеплять молекулы РНК (Cas13a) или оцДНК (Cas12a и Cas12b) [19], при этом реакция эффективно протекает при 37—41 °С (а в случае Cas12b — при 60—65 °С).

Коллатеральная активность CRISPR/Cas-нуклеаз положена в основу методов определения концентрации нуклеиновых кислот (рис. 3), где целевые продукты RPA или LAMP (или фрагменты РНК, синтезированные по ним как матрицам) селективно узнаются комплексом CRISPR/Cas-нуклеазы с нРНК (рис. 3, шаг 2). При этом в реакционной смеси присутствуют короткие РНК- или ДНК-олигонуклеотиды (“репортёры”), меченные FAM и молекулой-“гасителем” (англ. quencher); их расхождение в пространстве при расщеплении олигонуклеотида приводит к росту интенсивности флуоресценции (рис. 3, шаги 3 и 4). Напротив, для сопряжения с LFA “репортёры” несут на концах FAM и биотин. При этом стоит отметить, что в случае CRISPR/Cas-анализа положения контрольной и тестовой полос в LFA меняются местами. Это связано с тем, что регистрируют не появление ампликонов, меченных FAM и биотином, а исчезновение несущих их “репортёров” в результате расщепления Cas-нуклеазами. В случае использования Cas13a ампликоны, представляющие фрагменты дцДНК, содержат промотор РНК-полимеразы фага T7 для синтеза фрагментов РНК (рис. 3, шаг 1), что достигается дополнением последовательности одного из праймеров в RPA и LAMP участком с последовательностью промотора [77]. После формирования направляющей РНК, находящейся в комплексе с CRISPR/Cas-нуклеазой, дуплекса с последовательностью-мишенью (либо непосредственно с одной из нитей дцДНК, либо с РНК, транскрибированной с дцДНК как матрицей), происходит активация нуклеазы с приобретением ферментом коллатеральной активности [19]. Расщепление молекул-репортёров приводит к появлению флуоресценции, которую можно наблюдать визуально при освещении пробы синим светом, либо к исчезновению (ослаблению) первой полосы на тест-полоске.

**CRISPR/Cas-13a-нуклеаза** является РНК-направляемой рибонуклеазой, узнающей

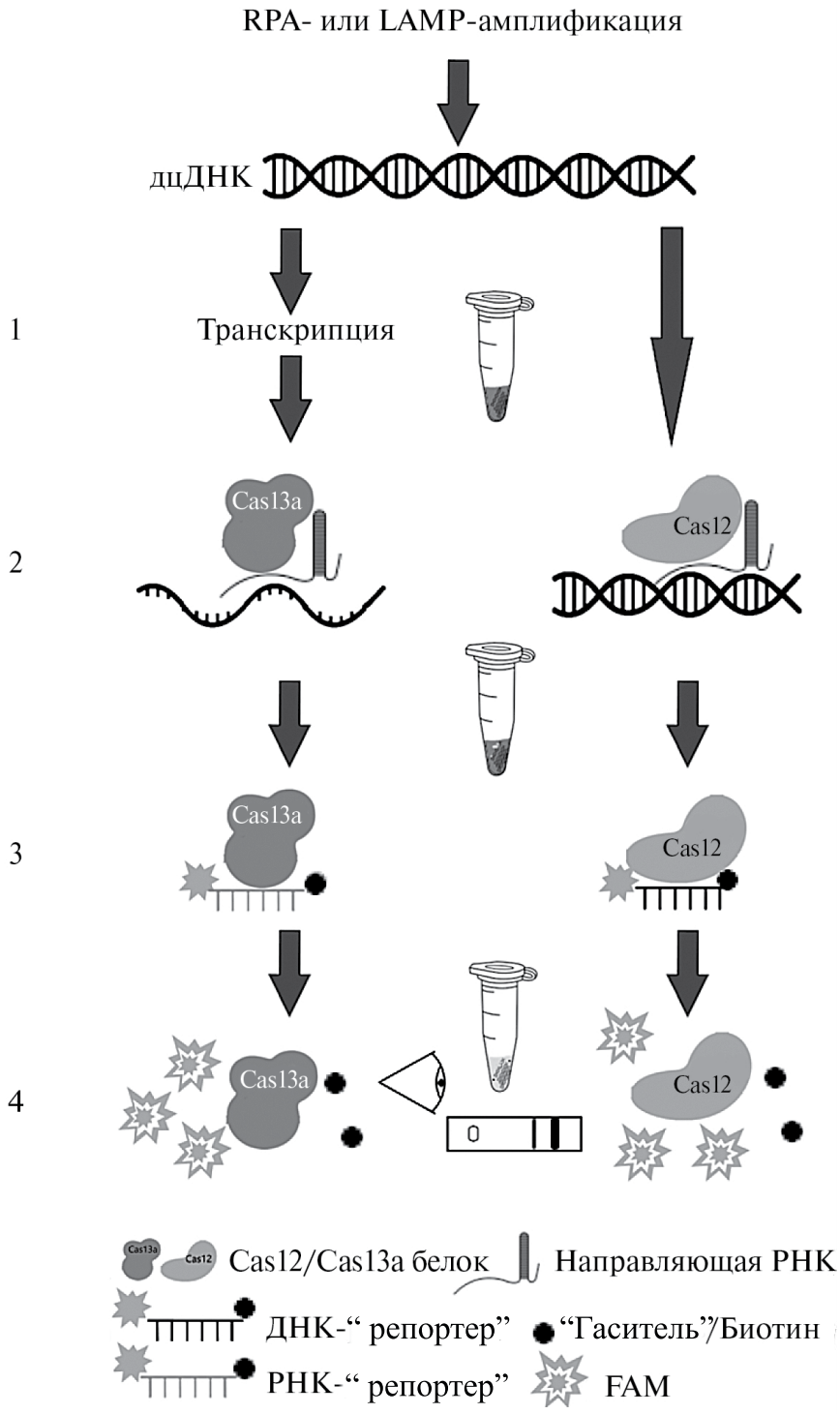


**Рис. 3.** Схематическое изображение детекции RPA- и LAMP-ампликонов с использованием CRISPR/Cas-нуклеаз Cas13a и Cas12 (Cas12a или Cas12b).

последовательность РНК-мишени. Первая работа, демонстрирующая возможность комбинирования изотермической амплификации (RPA и RT-RPA) с CRISPR-нуклеазой Cas13a опубликована Гутенбергом с соавт. в 2017 году [77]. CRISPR/Cas13a-детекция требует введения этапа транскрипции, где ДНК-ампликоны, образующиеся в ходе RPA или LAMP, используются в качестве матрицы для энзиматического синтеза молекул РНК, выступающих в роли узнаваемой Cas13a-нуклеазой

мишени. Предложенный метод биохимического анализа получил название SHERLOCK (Specific High-sensitivity Enzymatic Reporter un-LOCKing). Чуть позже [78] та же группа исследователей показала возможность сопряжения метода с LFA (SHERLOCK-LFA) для обнаружения вирусов денге и Зика с пределом обнаружения 1 копия генома вируса на микролитр образца. В дальнейшем SHERLOCK-LFA использовали, например, для определения РНК-вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней с пределом обнаружения 172 копии вируса на RPA-образец (при этом другие вирусы, также вызывающие эпизоотии у свиней, такие как вирус свиного герпеса, парвовирус и цирковирус 2 свиней, не мешали определению) [79] и для высокоселективного определения вируса тембусу у уток с пределом обнаружения 1 вирус в реакционной пробе при высокой селективности [80].

Ещё в первой работе [77] по методу SHERLOCK показано, что все стадии (RPA, транскрипция и последующий CRISPR/Cas13a-анализ) могут выполняться в одной реакционной смеси. Такая схема проведения анализа в дальнейшем реализована, например, для определения бактерий, вызывающих сальмонеллёз, с пределом обнаружения 200 бактерий на реакционную пробу, что сравнимо с аналитическими характеристиками ПЦР, но заметно выше, чем в случае проведения стадии CRISPR/Cas-регистрации раздельно (20 бактерий на RPA-образец) [81]. Интересно, что предложен также способ, где амплификацию и CRISPR/Cas-анализ проводили в одной тест-пробирке, но последовательно [82]. Для этого в тест-пробирку помещали вторую пробирку меньшего размера из гидрофобного материала с отверстием в дне, через которое в обычных условиях реакционная смесь не проходила. RPA и транскрипция протекали во внутренней пробирке, после чего её содержимое переносили в реакционную смесь для Cas13a-регистрации либо центрифугированием тест-пробирки (лабораторные условия), либо путем её интенсивного встряхивания (внелабораторные условия). Во втором случае (совместим с PONT) результат может быть определён визуально с использованием УФ-лампы или светодиодного светильника с голубым светом с пределом обнаружения 30 копий вируса африканской чумы свиней на пробу [82]. Другой подход к визуальному определению коллатеральной активности Cas13a-нуклеазы, который можно отнести к колориметрическим, предложен в работе [83]: нуклеаза расщепляла РНК-олигонуклеотиды, иммобилизованные на поверхности золотых наночастиц, что приводило к агрегации последних и изменению цвета пробы от пурпурного к сиреневому и далее к фиолетовому.

Наряду с RPA LAMP дополнена CRISPR/Cas13a-анализом. Так, вирус SARS-CoV-2 определили с пределом обнаружения 10 вирусных частиц на реакцию в RT-LAMP-Cas13a-тесте, сопряжённом с LFA [84]. Несмотря на значительное количество примеров успешной реализации метода SHERLOCK для обнаружения инфекционных агентов, у него есть существенный недостаток — необходимость получения РНК с ДНК-ампликонов в качестве матрицы требует добавления к одному из праймеров последовательности промотора полимеразы фага T7, что значительно усложняет подбор праймеров из-за возможности нежелательного спаривания остатков оснований промотора и праймеров.

**Нуклеазы CRISPR/Cas-12a и CRISPR/Cas-12b.** CRISPR/Cas12-нуклеаза в комплексе с нРНК узнаёт заданную последовательность в одной из цепей дцДНК, что устраняет необходимость этапа транскрипции. Однако, в отличие от Cas13a, данная CRISPR/Cas-нуклеаза для эффективной активации требует наличия так называемого PAM (англ. protospacer adjacent motif) — последовательности TTTV, непосредственно примыкающей к участку, комплементарному протоспейсеру с 5'-конца [85]. Наряду с TTTV ряд других последовательностей из четырёх нуклеотидов также может выступать в качестве PAM, однако за счёт заметного снижения эффективности активации Cas12-нуклеазы (субоптимальные PAM) [86].

Метод определения целевых RPA-ампликонов с использованием нуклеазы CRISPR/Cas12a предложен в 2018 году [87] и получил название DETECTR (англ. DNA Endonuclease Targeted CRISPR Trans Reporter). Годом позже показано [88], что обе стадии DETECTR (RPA или RT-RPA и определение целевых ампликонов) могут быть проведены в одной реакционной смеси, что, очевидно, наиболее соответствует требованиям PONT. Такой формат DETECTR стал преобладающим в последнее время для определения уровня содержания различных инфекционных агентов с высокой селективностью и пределом обнаружения до нескольких молекул РНК- или ДНК-мишени на реакционную пробу [85, 86, 88—93].

Для проведения амплификации и CRISPR/Cas-анализа в одной реакционной пробе используют два подхода: либо все компоненты сразу смешивают в реакционной смеси [88, 94, 95], либо

реакции протекают в одной тест-пробирке, но последовательно, для чего предложено помещать реакционную смесь для RPA на дно пробирки, а реакционную смесь, содержащую Cas12a-нуклеазу, на нижнюю часть крышки пробирки [96]. При этом смеси могут дополнительно разделяться нанесением слоя минерального масла на реакционную смесь для RPA [97]. После прохождения RPA обе смеси смешивают либо центрифугированием (лабораторные условия) [96], либо встряхиванием тест-пробирки (формат PONT) [96, 97].

Хотя проведение обеих реакций одновременно со смешиванием всех компонентов в одной реакционной смеси кажется более предпочтительным, изначально такой подход столкнулся с проблемой более низкой чувствительности, что связано с расщеплением активированной Cas12a-нуклеазой как участков оцДНК, формирование которых сопровождает RPA, так и, возможно, праймеров [85, 98, 99]. Интересно, что частично эта проблема может быть решена добавлением в реакционную смесь глицерина [98]. Однако более успешным решением стало понижение коллатеральной активности Cas12a-нуклеазы, которое достигалось отказом от необходимости наличия PAM в последовательности RPA-ампликона или выбором субоптимального PAM [85, 86, 90, 99]. Хотя при этом значительно снижается эффективность активации Cas12a-нуклеазы и, соответственно, проявление её коллатеральной активности, такое снижение компенсируется увеличением числа мишеней в ходе успешного прохождения RPA. Отказ от PAM одновременно существенным образом упрощает подбор комбинации RPA-праймеров и последовательности спейсера нРНК. Дополнительно предложено использовать мутантные варианты Cas12a-нуклеазы с пониженной коллатеральной активностью [90].

В формате PONT результат RPA-CRISPR/Cas12a-детекции может быть определён визуально по появлению зеленоватой окраски пробы при её освещении синим светом (с использованием светодиодного светильника) с применением коротких ДНК-олигонуклеотидов, несущих на концах FAM и “гаситель” в качестве “репортёров” [85, 89, 92]. С другой стороны, при использовании “репортёров”, меченных FAM и биотином, результат может быть определён с помощью LFA [100, 101]. Кроме того, для визуального обнаружения применяли наночастицы золота, конъюгированные с ДНК-олигонуклеотидами [102, 103], а также колориметрические методы, основанные на использовании производных политиофена (образуют комплекс с оцДНК; при деградации оцДНК, активированной Cas12a-нуклеазой, происходит конформационная реорганизация политиофена, сопровождающаяся изменением цвета реакционной смеси с красного на жёлтый) [93] и тетраметилбензидина [104]. В последнем случае реализована сложная схема анализа, в которой расщепление ДНК-аптамера активированной Cas12a-нуклеазой вызывало высвобождение связанных аптамером ионов серебра, что, в свою очередь, приводило к окислению тетраметилбензидина, сопровождавшемуся развитием окраски синего цвета [104].

Наряду с RPA сопряжение LAMP с CRISPR/Cas12a-анализом также получило широкое распространение. Первая работа, демонстрирующая возможность комбинирования CRISPR/Cas12a и LAMP, опубликована в 2019 году [105]. Хотя первоначально LAMP и CRISPR/Cas12a-анализ выполнялись последовательно в разных тест-пробирках (например, в работе [106], где SARS-CoV-2 определён с пределом обнаружения 20 вирусов на LAMP-образец), довольно быстро был реализован вариант анализа, где реакция выполнялась в одной тест-пробирке [107, 108]. Как и в случае RPA-Cas12a-анализа, реакционную смесь для RT-LAMP помещали на дно пробирки, а содержащую Cas12a — на нижнюю сторону крышки пробирки. Обе смеси были разделены слоем воздуха и минерального масла, которое наслаивалось на нижнюю реакционную смесь. Только нижняя часть пробирки подвергалась нагреванию. После прохождения реакции обе части смешивали интенсивным встряхиванием тест-пробирки. Результат определяли визуально при освещении пробы синим светом, при этом предел обнаружения составил 50 копий РНК-мишени (фрагмент генома SARS-CoV-2) [107]. Кроме того, LAMP-Cas12a-детекция может быть интегрирована с LFA [109, 110], а также с колориметрическим методом с использованием наночастиц золота [111].

Одновременная регистрация несколько мишеней (мультиплексная детекция) является несомненным достоинством любого теста. Возможность проведения анализа в таком формате продемонстрирована в случае комбинирования CRISPR/Cas12a как с RPA [91, 102], так и с LAMP [112]. Однако это требует раздельного проведения реакций амплификации и Cas-анализа: амплификация выполняется одновременно с несколькими наборами праймеров, а затем присутствие специфических ампликонов определяется в отдельных реакциях с использованием комплексов Cas12a с нРНК, селективно узнающей заданный ампликон. Кроме того, показана возможность одновременной

регистрации двух мишений в одной реакционной пробе после RT-RPA комбинированием нуклеаз Cas12a и Cas13a и "репортёров", представляющих собой короткие ДНК- и РНК-олигонуклеотиды, меченные разными флуорофорами, соответственно [113].

CRISPR/Cas-нуклеаза, аналогичная Cas12a, но обнаруженная в термофилах, получила название CRISPR/Cas12b. Существенно большая термостабильность потенциально позволяет комбинировать её с LAMP в одной реакционной смеси. Впервые такая возможность продемонстрирована в работе [114] для рекомбинантной CRISPR/Cas12b-нуклеазы термофильной бактерии *Alicyclobacillus acidoterrestris*. Однако данная Cas-нуклеаза показывала приемлемую коллатеральную активность при температурах не выше 55 °C, что требовало понижения температуры LAMP и приводило к значительному увеличению времени анализа. Позднее было предложено использовать рекомбинантную CRISPR/Cas12b-нуклеазу из *Brevibacillus sp.* с более высокой термостабильностью, что позволило определить различные варианты вируса SARS-CoV-2 с пределом обнаружения от 60 до 2500 копий на реакцию в комбинации с RT-LAMP и температурой проведения амплификации 60—62 °C [115]. Интересно, что реакционная смесь для RT-LAMP-Cas12b может быть лиофилизована и регидрирована перед анализом [115], что является несомненным плюсом при тестировании в формате PONT.

Таким образом, к настоящему времени опубликовано значительное количество экспериментальных работ, показывающих возможность интегрирования CRISPR/Cas-нуклеаз с RPA и LAMP для разработки высокоселективных и высокочувствительных тестов для ДНК-диагностики инфекционных заболеваний, позволяющих регистрировать конечный результат визуально по окраске пробы (с использованием простых и дешёвых светодиодных светильников) или с помощью LFA.

## "ГНЕЗДОВАЯ" ИЗОТЕРМИЧЕСКАЯ АМПЛИФИКАЦИЯ

В 2017 году группа исследователей под руководством Бау [22] предложила совместить RPA и LAMP на том же принципе, на котором основана "гнездовая" ПЦР. При этом на первом этапе происходит амплификация ДНК-мишени, а на втором — амплификация участка дцДНК, находящегося внутри ДНК-мишени между последовательностями праймеров [3]. Разработанный способ биохимического анализа получил название "Penn-RAMP" [22]. При проведении Penn-RAMP сначала выполняется амплификация ДНК-мишени методом RPA, после чего RPA-ампликоны используют как стартовый материал для LAMP. Соответственно, последовательности праймеров для LAMP должны подбираться так, чтобы они были комплементарны участкам ДНК, находящимся внутри целевых RPA-ампликонов. Как следствие, нецелевые RPA-ампликоны не амплифицируются на втором шаге, что обеспечивает требуемую селективность определения ДНК-мишени при сохранении высокой чувствительности, обеспечиваемой RPA. При этом оптимальное время для первой реакции (RPA) составляет 10—20 мин (при 37 °C), для второй реакции (LAMP) — около 15 мин (при 65 °C) [22]. В итоге реакция Penn-RAMP занимает 30—40 мин.

Очевидным недостатком первоначального варианта метода Penn-RAMP была необходимость проведения его в двух тест-пробирках, что в силу высокой чувствительности метода могло приводит к ложноположительным результатам из-за возможности контаминации окружающего пространства ампликонами. Для преодоления этого недостатка предложено проводить обе реакции в одной тест-пробирке [116]: первая стадия (RPA или RT-RPA) происходит на крышке пробирке в 5 мкл реакционной смеси при 39 °C в течение 15—20 мин, первая смесь затем смешивается с 70 мкл второй реакционной смеси (LAMP) при помощи короткого центрифугирования и инкубируется при 65 °C в течение 40 мин. Применительно к образцам SARS-CoV-2 данный вариант метода показал 10-кратное снижение предела обнаружения по сравнению с RT-LAMP и ПЦР с обратной транскрипцией [116]. В 2022 году метод Penn-RAMP в формате "одной пробирки" получил дальнейшее развитие [117]: RPA проводили над слоем застывшего докозана (англ. docosane; относится к классу парафинов, совместим с LAMP) с температурой плавления 45 °C, под которым помещали раствор ингредиентов, необходимых для проведения LAMP, в буферном растворе, который при смешивании с реакционной смесью для RPA давал буферный раствор, совместимый с проведением LAMP. Это позволило обнаружить вирусы гепатита человека B и C с пределами обнаружения 10 и 25 вирионов в тест-пробирке соответственно в течение 30 мин [117]. Результат Penn-RAMP может быть зарегистрирован любым методом, используемым для LAMP и отвечающим требованиям PONT, в том числе с использованием флуоресцентных

и колориметрических красителей, а также иммунохроматографических тест-полосок [14, 28].

* * *

Суммируя изложенное, можно заключить, что рекомбиназная полимеразная и петлевая изотермическая амплификация позволяет определять РНК- и ДНК-мишени во внелабораторных условиях в отсутствие технически сложного оборудования. Оба метода амплификации характеризуются сопоставимыми значениями пределов обнаружения, которые могут варьироваться в диапазоне от нескольких копий ДНК-мишени до более чем тысячи копий в реакционной пробе, что определяется в первую очередь тем, насколько удачно подобраны праймеры в каждом случае. Сочетание RPA и LAMP в формате "гнездовой" амплификации позволяет на порядок понизить предел обнаружения по сравнению с использованием только RPA. В настоящее время предложены и апробированы различные простые способы регистрации результата амплификации: визуально по изменению окраски реакционной пробы или с помощью иммунохроматографических тест-полосок. Текущий уровень развития технологий изотермической амплификации, особенно возможность их сопряжения с селективным определением целевых ампликонов с помощью CRISPR/Cas-нуклеаз, открывает широкие возможности для практической разработки тестов для экспресс ДНК-диагностики инфекций человека, а также сельскохозяйственных животных и растений.

*Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 19-14-00247, https://rscf.ru/project/19-14-00247/*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Erdmann V.A., Jurga S., Barciszewski J.* RNA and DNA Diagnostics. N.Y.: Springer, 2015. P. 359.
2. *Schmitz J.E., Stratton C.W., Persing D.H., Tang Y.W.* Forty years of molecular diagnostics for infectious diseases // J. Clin. Microbiol. 2022. V. 60. № 10. Article e0244621. DOI: 10.1128/jcm.02446-21
3. *Rolfs A., Schuller I., Finckh U., Weber-Rolfs I.* PCR: Clinical Diagnostics and Research. N.Y.: Springer, 2011. P. 386.
4. *Abel G.* Current status and future prospects of point-of-care testing around the globe // Expert Rev. Mol. Diagn. 2015. V. 15. № 7. P. 853. DOI: 10.1586/14737159.2015.1060126
5. *Fernandes R.S., de Oliveira Silva J., Gomes K.B., Azevedo R.B., Townsend D.M., de Paula Sabino A., Branco de Barros A.L.* Recent advances in point of care testing for COVID-19 detection // Biomed. Pharmacother. 2022. V. 153. Article 113538. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113538
6. *De Felice M., De Falco M., Zappi D., Antonacci A., Scognamiglio V.* Isothermal amplification-assisted diagnostics for COVID-19 // Biosens. Bioelectron. 2022. V. 205. Article 114101. DOI: 10.1016/j.bios.2022.114101
7. *Vidic J., Vizzini P., Manzano M., Kavanaugh D., Ramarao N., Zivkovic M., Radonic V., Knezevic N., Giouroudi I., Gadjanski I.* Point-of-need DNA testing for detection of foodborne pathogenic bacteria // Sensors (Basel). 2019. V. 19. № 5. P. 1100. DOI: 10.3390/s19051100
8. *Baldi P., La Porta N.* Molecular approaches for low-cost point-of-care pathogen detection in agriculture and forestry // Front. Plant Sci. 2020. V. 11. Article 570862. DOI: 10.3389/fpls.2020.570862
9. *Demetria C., Kimitsuki K., Yahiro T., Saito N., Hashimoto T., Khan S., Chu M.Y.J., Manalo D., Mananggit M., Quiambao B., Nishizono A.* Evaluation of a real-time mobile PCR device (PCR 1100) for the detection of the rabies gene in field samples // Trop. Med. Health. 2023. V. 51. № 1. P. 17. DOI: 10.1186/s41182-023-00501-3
10. *Nguyen P.Q.M., Wang M., Ann Maria N., Li A.Y., Tan H.Y., Xiong G.M., Tan M.M., Bhagat A.A.S., Ong C.W.M., Lim C.T.* Modular micro-PCR system for the onsite rapid diagnosis of COVID-19 // Microsyst. Nanoeng. 2022. V. 8. P. 82. DOI: 10.1038/s41378-022-00400-3
11. *Jiang H., Li Y., Lv X., Deng Y., Li X.* Recent advances in cascade isothermal amplification techniques for ultra-sensitive nucleic acid detection // Talanta. 2023. V. 260. Article 124645. DOI: 10.1016/j.talanta.2023.124645
12. *Bodulev O.L., Sakharov I.Y.* Isothermal nucleic acid amplification techniques and their use in bioanalysis // Biochemistry (Moscow). 2020. V. 85. № 2. P. 147. DOI: 10.1134/S0006297920020030
13. *Ivanov A.V., Safenkova I.V., Zherdev A.V., Dzantiev B.B.* The potential use of isothermal amplification assays for in-field diagnostics of plant pathogens // Plants (Basel). 2021. V. 10. № 11. Article 2424. DOI: 10.3390/plants10112424
14. *Wong Y.P., Othman S., Lau Y.L., Radu S., Chee H.Y.* Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): A versatile technique for detection of micro-organisms // J. Appl. Microbiol. 2018. V. 124. № 3. P. 626. DOI: 10.1111/jam.13647
15. *Oliveira B.B., Veigas B., Baptista P.V.* Isothermal amplification of nucleic acids: The race for the next "Gold Standard" // Front. Sens. 2021. V. 2. Article

752600.
DOI: 10.3389/fsens.2021.752600

16. *Torres C., Vitalis E.A., Baker B.R., Gardner S.N., Torres M.W., Dzenitis J.M.* LAVA: An open-source approach to designing LAMP (loop-mediated isothermal amplification) DNA signatures // BMC Bioinformatics. 2011. V. 12. P. 240.
DOI: 10.1186/1471-2105-12-240
17. *Jia B., Li X., Liu W., Lu C., Lu X., Ma L., Li Y.Y., Wei C.* GLAPD: Whole genome based LAMP primer design for a set of target genomes // Front. Microbiol. 2019. V. 10. P. 2860.
DOI: 10.3389/fmicb.2019.02860
18. *Higgins M., Ravenhall M., Ward D., Phelan J., Ibrahim A., Forrest M.S., Clark T.G., Campino S.* PrimedRPA: Primer design for recombinase polymerase amplification assays // Bioinformatics. 2019. V. 35. № 4. P. 682.
DOI: 10.1093/bioinformatics/bty701
19. *Yuan B., Yuan C., Li L., Long M., Chen Z.* Application of the CRISPR/Cas system in pathogen detection: A review // Molecules. 2022. V. 27. № 20. Article 6999.
DOI: 10.3390/molecules27206999
20. *García-Bernalt Diego J., Fernández-Soto P., Muro A.* The future of point-of-care nucleic acid amplification diagnostics after COVID-19: Time to walk the walk // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23. № 22. Article 14110.
DOI: 10.3390/ijms232214110
21. *Ivanov A.V., Safenkova I.V., Drenova N.V., Zherdev A.V., Dzantiev B.B.* Comparison of biosensing methods based on different isothermal amplification strategies: A case study with *Erwinia amylovora* // Biosensors (Basel). 2022. V. 12. № 12. Article 1174.
DOI: 10.3390/bios12121174
22. *Song J., Liu C.C., Mauk M.G., Rankin S.C., Lok J.B., Greenberg R.M., Bau H.H.* Two-stage isothermal enzymatic amplification for concurrent multiplex molecular detection// Clin. Chem. 2017. V. 63. № 3. P. 714.
DOI: 10.1373/clinchem.2016.263665
23. *Piepenburg O., Williams C.H., Stemple D.L., Armes N.A.* DNA detection using recombination proteins // PLoS Biol. 2006. V. 4. № 7. Article e204.
DOI: 10.1371/journal.pbio.0040204
24. *Lobato I.A., O'Sullivan C.K.* Recombinase polymerase amplification: Basics, applications and recent advances // Trends Anal. Chem. 2018. V. 98. P. 19.
DOI: 10.1016/j.trac.2017.10.015
25. *Higgins M., Stringer O.W., Ward D., Andrews J.M., Forrest M.S., Campino S., Clark T.G.* Characterizing the impact of primer-template mismatches on recombinase polymerase amplification // J. Mol. Diagn. 2022. V. 24. № 11. P. 1207.
DOI: 10.1016/j.jmoldx.2022.08.005.
26. *Yang Z., Le J.T., Hutter D., Bradley K.M., Overton B.R., McLendon C., Benner S.A.* Eliminating primer dimers and improving SNP detection using self-avoiding molecular recognition systems // Biol. Methods Protoc. 2020. V. 5. № 1. Article bpaa004.
DOI: 10.1093/biomethods/bpaa004
27. *Notomi T., Okayama H., Masubuchi H., Yonekawa T., Watanabe K., Amino N., Hase T.* Loop-mediated isothermal amplification of DNA // Nucleic Acids Res. 2000. V. 28. № 12. Article e63.
DOI: 10.1093/nar/28.12.e63
28. *Park J.W.* Principles and applications of loop-mediated isothermal amplification to point-of-care tests // Biosensors (Basel). 2022. V. 12. № 10. Article 857.
DOI: 10.3390/bios12100857
29. *Estrela P.F., Mendes G.M., Oliveira K.G., Bailão A.M., Soares C.M., Assunção N.A., Duarte G.R.* Ten-minute direct detection of *Zika virus* in serum samples by RT-LAMP // J. Virol. Methods. 2019. V. 271. Article 113675.
DOI: 10.1016/j.jviromet.2019.113675
30. *Ji J., Chen Q., Sui C., Hu W., Yu Z., Zhang Z., Mu X., Xu X., Yao L., Kan Y., Xie Q.* Rapid and visual detection of novel *Astroviruses* causing fatal gout in goslings using one-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification // Poult. Sci. 2020. V. 99. № 9. P. 4259.
DOI: 10.1016/j.psj.2020.05.024
31. *Chen H.W., Weissenberger G., Ching W.M.* Development of lyophilized loop-mediated isothermal amplification reagents for the detection of *Leptospira* // Mil. Med. 2016. V. 181. № 5. P. 227.
DOI: 10.7205/MILMED-D-15-00149
32. *Song X., Coulter F.J., Yang M., Smith J.L., Tafesse F.G., Messer W.B., Reif J.H.* A lyophilized colorimetric RT-LAMP test kit for rapid, low-cost, at-home molecular testing of SARS-CoV-2 and other pathogens // Sci. Rep. 2022. V. 12. № 1. Article 7043.
DOI: 10.1038/s41598-022-11144-5
33. *Nagamine K., Hase T., Notomi T.* Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers // Mol. Cell. Probes. 2002. V. 16. № 3. P. 223.
DOI: 10.1006/mcpr.2002.0415
34. *Fischbach J., Xander N.C., Frohme M., Glokler J.F.* Shining a light on LAMP assays – A comparison of LAMP visualization methods including the novel use of berberine // Biotechniques. 2015. V. 58. № 4. P. 189.
DOI: 10.2144/000114275
35. *Mori Y., Nagamine K., Tomita N., Notomi T.* Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation // Biochem. Biophys. Res. Com. 2001. V. 289. № 1. P. 150.
DOI: 10.1006/bbrc.2001.5921
36. *Shirato K.* Detecting amplicons of loop-mediated isothermal amplification // Microbiol. Immunol. 2019. V. 63. № 10. P. 407.
DOI: 10.1111/1348-0421.12734
37. *Chatterjee S., Mukhopadhyay S.* Recent advances of lateral flow immunoassay components as "point of

need" // J. Immunoassay Immunochem. 2022. V. 43. № 6. P. 579.
DOI: 10.1080/15321819.2022.2122063

38. *Lai M.Y., Lau Y.L.* Detection of *Plasmodium knowlesi* using recombinase polymerase amplification (RPA) combined with SYBR Green I // Acta Tropica. 2020. V. 208. Article 105511.
DOI: 10.1016/j.actatropica.2020.105511

39. *Singpanomchai N., Akeda Y., Tomono K., Tamaru A., Santanirand P., Ratthawongjirakul P.* Naked eye detection of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by recombinase polymerase amplification-SYBR green I assays // J. Clin. Lab. Anal. 2019. V. 33. № 2. Article e22655.
DOI: 10.1002/jcla.22655

40. *Waman V.P., Vedithi S.C., Thomas S.E., Bannerman B.P., Munir A., Skwark M.J., Malhotra S., Blundell T.L.* Mycobacterial genomics and structural bioinformatics: opportunities and challenges in drug discovery // Emerg. Microbes Infect. 2019. V. 8. № 1. P. 109.
DOI: 10.1080/22221751.2018.1561158

41. *Zheng Y., Hu P., Ren H., Wang H., Cao Q., Zhao Q., Li H., Zhang H., Liu Z., Li Y., Wang C., Liu Z., Lu S.* RPA-SYBR Green I based instrument-free visual detection for pathogenic *Yersinia enterocolitica* in meat // Anal. Biochem. 2021. V. 621. Article 114157.
DOI: 10.1016/j.ab.2021.114157

42. *Parida M., Horioke K., Ishida H., Dash P.K., Saxena P., Jana A.M., Islam M.A., Inoue S., Hosaka N., Morita K.* Rapid detection and differentiation of dengue virus serotypes by a real-time reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay // J. Clin. Microbiol. 2005. V. 43. № 6. P. 2895.
DOI: 10.1128/JCM.43.6.2895-2903.2005

43. *Hill J., Beriwal S., Chandra I., Paul V.K., Kapil A., Singh T., Wadowsky R.M., Singh V., Goyal A., Jahnukainen T., Johnson J.R., Tarr P.I., Vats A.* Loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of common strains of *Escherichia coli* // J. Clin. Microbiol. 2008. V. 46. № 8. P. 2800.
DOI: 10.1128/JCM.00152-08

44. *Lai M.Y., Ooi C.H., Lau Y.L.* Validation of SYBR green I based closed-tube loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for diagnosis of knowlesi malaria // Malar. J. 2021. V. 20. № 1. Article 166.
DOI: 10.1186/s12936-021-03707-0

45. *Vinayaka A.C., Golabi M., Than T.L.Q., Wolff A., Bang D.D.* Point-of-care diagnosis of invasive non-typhoidal *Salmonella enterica* in bloodstream infections using immunomagnetic capture and loop-mediated isothermal amplification // N. Biotechnol. 2022. V. 66. P. 1
DOI: 10.1016/j.nbt.2021.08.003

46. *Curtis K.A., Rudolph D.L., Owen S.M.* Rapid detection of HIV-1 by reverse-transcription, loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) // J. Virol. Methods. 2008. V. 151. № 2. P. 264.
DOI: 10.1016/j.jviromet.2008.04.011

47. *Dukes J.P., King D.P., Alexandersen S.* Novel reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of foot-and-mouth disease virus // Arch. Virol. 2006. V. 151. № 6. P. 1093.
DOI: 10.1007/s00705-005-0708-5

48. *Kottur J., Nair D.T.* Pyrophosphate hydrolysis is an intrinsic and critical step of the DNA synthesis reaction // Nucleic Acids Res. 2018. V. 46. № 12. P. 5875.
DOI: 10.1093/nar/gky402.

49. *Tomita N., Mori Y., Kanda H., Notomi T.* Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of gene sequences and simple visual detection of products // Nat. Protoc. 2008. V. 3. № 5. P. 877.
DOI: 10.1038/nprot.2008.57

50. *Mansour S.M., Ali H., Chase C.C., Cepica A.* Loop-mediated isothermal amplification for diagnosis of 18 World Organization for Animal Health (OIE) notifiable viral diseases of ruminants, swine and poultry // Anim. Health Res. Rev. 2015. V. 16. № 2. P. 89.
DOI: 10.1017/S1466252315000018

51. *Liu H., Yu H., Peng Z.Q., Yu Y.Y., Xie J.F., Yang Y.* Visual and rapid detection of *Plesiomonas shigelloides* using loop-mediated isothermal amplification method // Lett. Appl. Microbiol. 2019. V. 69. № 6. P. 411.
DOI: 10.1111/lam.13225

52. *Chen X., Ma K., Yi X., Xiong L., Wang Y., Li S.* The rapid and visual detection of methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using multiplex loop-mediated isothermal amplification linked to a nanoparticle-based lateral flow biosensor // Antimicrob. Resist. Infect. Control. 2020. V. 9. № 1. Article 111.
DOI: 10.1186/s13756-020-00774-x

53. *Chen X., Zhou Q., Wu X., Wang S., Liu R., Dong S., Yuan W.* Visual and rapid diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* using loop-mediated isothermal amplification combined with a polymer nanoparticle-based biosensor in clinical application // Front. Mol. Biosci. 2021. V. 8. Article 702134.
DOI: 10.3389/fmolb.2021.702134

54. *Wu C., Zeng Y., He Y.* Rapid visualization and detection of *Staphylococcus aureus* based on loop-mediated isothermal amplification // World J. Microbiol. Biotechnol. 2021. V. 37. № 12. Article 209.
DOI: 10.1007/s11274-021-03178-0

55. *Goto M., Honda E., Ogura A., Nomoto A., Hanaki K.* Colorimetric detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by using hydroxy naphthol blue // Biotechniques. 2009. V. 46. № 3. P. 167.
DOI: 10.2144/000113072

56. *Tanner N.A., Zhang Y., Evans T.C.* Visual detection of isothermal nucleic acid amplification using pH-sensitive dyes // Biotechniques. 2015. V. 58. № 2. P. 59.
DOI: 10.2144/000114253

57. *Priti, Jangra S., Baranwal V.K., Dietzgen R.G., Ghosh A.* A rapid field-based assay using recombinase polymerase amplification for identification of *Thrips*

*palmi*, a vector of tospoviruses // J. Pest Sci. 2021. V. 94. № 2. P. 219.
DOI:10.1007/s10340-020-01284-w

58. *Nolasco O., Montoya J., Ana L., Barrientos S., Rosanas-Urge A., Gamboa D.* Multicopy targets for *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* detection by colorimetric LAMP // Malar. J. 2021. V. 20. № 1. Article 225.
DOI: 10.1186/s12936-021-03753-8

59. *Cecere P., Gatto F., Cortimiglia C., Bassi D., Lucchini F., Cocconcelli P.S., Pompa P.P.* Colorimetric point-of-care detection of *Clostridium tyrobutyricum* spores in milk samples // Biosensors (Basel). 2021. V. 11. Article 293.
DOI: 10.3390/bios11090293

60. *Cibecchini G., Cecere P., Tumino G., Morcia C, Ghizzoni R., Carnevali P., Terzi V., Pompa P.P.* A fast, naked-eye assay for varietal traceability in the durum wheat production chain // Foods. 2020. V. 9. № 11. Article 1691.
DOI: 10.3390/foods9111691

61. *Aldossary A.M., Tawfik E.A., Altammami M.A., Alquait A.A., Booq R.Y., Sendy B.K., Alarawi M.S., Gojobori T., Altamimi A.M., Alaifan T.A., Albarrag A.M., Alyamani E.J.* Development and validation of reverse transcriptase loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) as a simple and rapid diagnostic tool for SARS-CoV-2 detection // Diagnostics (Basel). 2022. V. 12. № 9. Article 2232.
DOI: 10.3390/diagnostics12092232

62. *Koczula K.M., Gallotta A.* Lateral flow assays // Essays Biochem. 2016. V. 60. № 1. P. 111.
DOI: 10.1042/EBC20150012

63. *Kortli S., Jauset-Rubio M., Tomaso H., Abbas M.N., Bashammakh A.S., El-Shahawi M.S., Alyoubi A.O., Ben-Ali M., O'Sullivan C.K. Yersinia pestis* detection using biotinylated dNTPs for signal enhancement in lateral flow assays // Anal. Chim. Acta. 2020. V. 1112. P. 54.
DOI: 10.1016/j.aca.2020.03.059

64. *Agarwal S., Warmt C., Henkel J., Schrick L, Nitsche A., Bier F.F.* Lateral flow-based nucleic acid detection of SARS-CoV-2 using enzymatic incorporation of biotin-labeled dUTP for POCT use // Anal. Bioanal. Chem. 2022. V. 414. № 10. P. 3177.
DOI: 10.1007/s00216-022-03880-4

65. *Mayran C., Foulongne V., Perre P.V., Fournier-Wirth C., Molès J.P., Cantaloube J.F.* Rapid diagnostic test for hepatitis B virus viral load based on recombinase polymerase amplification combined with a lateral flow read-out // Diagnostics (Basel). 2022. V. 12. № 3. Article 621.
DOI: 10.3390/diagnostics12030621

66. *Ivanov A.V., Safenkova I.S., Zherdev A.V., Dzantiev B.B.* Nucleic acid lateral flow assay with recombinase polymerase amplification: Solutions for highly sensitive detection of RNA virus // Talanta. 2020. V. 210. Article 120616.
DOI: 10.1016/j.talanta.2019.120616

67. *Ivanov A.V., Safenkova I.S., Drenova N.V., Zherdev A.V., Dzantiev B.B.* Development of lateral flow assay combined with recombinase polymerase amplification for highly sensitive detection of Dickeya solani // Mol. Cell. Probes. 2020. V. 53. Article 101622.
DOI: 10.1016/j.mcp.2020.101622

68. *Zheng T., Li X., Si Y., Wang M., Zhou Y., Yang Y., Liang N., Ying B., Wu P.* Specific lateral flow detection of isothermal nucleic acid amplicons for accurate point-of-care testing // Biosens. Bioelectron. 2023. V. 222. Article 114989.
DOI: 10.1016/j.bios.2022.114989

69. *Safenkova I.S., Ivanov A.V., Slutskaya E.S., Samokhvalov A.V., Zherdev A.V., Dzantiev B.B.* Key significance of DNA-target size in lateral flow assay coupled with recombinase polymerase amplification // Anal. Chim. Acta. 2020. V. 1102. P. 109.
DOI: 10.1016/j.aca.2019.12.048

70. *Chen X., Zhou Q., Li S., Yan H., Chang B., Wang Y., Dong S.* Rapid and visual detection of SARS-CoV-2 using multiplex reverse transcription loop-mediated isothermal amplification linked with gold nanoparticle-based lateral flow biosensor // Front. Cell. Infect. Microbiol. 2021. V. 11. Article 581239.
DOI: 10.3389/fcimb.2021.581239

71. *Zasada A.A., Mosiej E., Prygiel M., Polak M., Wdowiak K., Formińska K., Ziółkowski R., Żukowski K., Marchlewicz K., Nowiński A., Nowińska J., Rastawicki W., Malinowska E.* Detection of SARS-CoV-2 using reverse transcription helicase dependent amplification and reverse transcription loop-mediated amplification combined with lateral flow assay // Biomedicines. 2022. V. 10. № 9. Article 2329.
DOI: 10.3390/biomedicines10092329

72. *Srisawat W., Saengthongpinit C., Nuchchanart W.* Development of loop-mediated isothermal amplification-lateral flow dipstick as a rapid screening test for detecting Listeria monocytogenes in frozen food products using a specific region on the ferrous iron transport protein B gene // Vet. World. 2022. V. 15. № 3. P. 590.
DOI: 10.14202/vetworld.2022.590-601

73. *Wang L., Chen G.F., Zhang C.Y., Wang Y.Y., Sun R.* Rapid and sensitive detection of Amphidinium carterae by loop-mediated isothermal amplification combined with a chromatographic lateral-flow dipstick // Mol. Cell. Probes. 2019. V. 43, P. 72.
DOI: 10.1016/j.mcp.2018.11.001

74. *Longo M.C., Berninger M.S., Hartley J.L.* Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions // Gene. 1990. V. 93. № 1. P. 125.
DOI: 10.1016/0378-1119(90)90145-h

75. *Hsieh K., Mage P.L., Csordas A.T., Eisenstein M., Soh H.T.* Simultaneous elimination of carryover contamination and detection of DNA with uracil-DNA-glycosylase-supplemented loop-mediated isothermal amplification (UDG-LAMP) // Chem. Commun.

(Camb.). 2014. V. 50. № 28. P. 3747.
DOI: 10.1039/c4cc00540f

76. *Koonin E.V., Makarova K.S., Zhang F.* Diversity, classification and evolution of CRISPR-Cas systems // Curr. Opin. Microbiol. 2017. V. 37. P. 67.
DOI: 10.1016/j.mib.2017.05.008

77. *Gootenberg J.S., Abudayyeh O.O., Lee J.W., Essletzbichler P., Dy A.J., Joung J., Verdine V., Donghia N., Daringer N.M., Freije C.A., Myhrvold C., Bhattacharyya R.P., Livny J., Regev A., Koonin E.V., Hung D.T., Sabeti P.C., Collins J.J., Zhang F.* Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2 // Science. 2017. V. 356. № 6336. P. 438.
DOI: 10.1126/science.aam9321

78. *Myhrvold C., Freije C.A., Gootenberg J.S., Abudayyeh O.O., Metsky H.C., Durbin A.F., Kellner M.J., Tan A.L., Paul L.M., Parham L.A., Garcia K.F., Barnes K.G., Chak B., Mondini A., Nogueira M.L., Isern S., Michael S.F., Lorenzana I., Yozwiak N.L., MacInnis B.L., Bosch I., Gehrke L., Zhang F., Sabeti P.C.* Field-deployable viral diagnostics using CRISPR-Cas13 // Science. 2018. V. 360. № 6387. P. 444.
DOI: 10.1126/science.aas8836

79. *Chang Y., Deng Y., Li T., Wang J., Wang T., Tan F., Li X., Tian K.* Visual detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus using CRISPR-Cas13a // Transbound. Emerg. Dis. 2020. V. 67. № 2. P. 564.
DOI: 10.1111/tbed.13368

80. *Yin D., Yin L., Wang J., Shen X., Pan X., Hou H., Zhao R., Hu X., Wang G., Qi K., Dai Y.* Visual detection of duck Tembusu virus with CRISPR/Cas13: A sensitive and specific point-of-care detection // Front. Cell. Infect. Microbiol. 2022. V. 12. Article 848365. DOI: 10.3389/fcimb.2022.848365

81. *An B., Zhang H., Su X., Guo Y., Wu T., Ge Y., Zhu F., Cui L.* Rapid and sensitive detection of salmonella spp. using CRISPR-Cas13a combined with recombinase polymerase amplification // Front. Microbiol. 2021. V. 12. Article 732426.
DOI: 10.3389/fmicb.2021.732426

82. *Hu F., Liu Y., Zhao S., Zhang Z., Li X., Peng N., Jiang Z.* A one-pot CRISPR/Cas13a-based contamination-free biosensor for low-cost and rapid nucleic acid diagnostics // Biosens. Bioelectron. 2022. V. 202. Article 113994.
DOI: 10.1016/j.bios.2022.113994

83. *López-Valls M., Escalona-Noguero C., Rodríguez-Díaz C., Pardo D., Castellanos M., Milán-Rois P., Martínez-Garay C., Coloma R., Abreu M., Cantón R., Galán J.C., Miranda R., Somoza Á., Sot B.* CASCADE: Naked eye-detection of SARS-CoV-2 using Cas13a and gold nanoparticles // Anal. Chim. Acta. 2022. V. 1205. Article 339749.
DOI: 10.1016/j.aca.2022.339749

84. *Ortiz-Cartagena C., Fernández-García L., Blasco L., Pacios O., Bleriot I., López M., Cantón R., Tomás M.* Reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification-CRISPR-Cas13a technology as a promising diagnostic tool for SARS-CoV-2 // Microbiol. Spectr. 2022. V. 10. № 5. Article e0239822.
DOI: 10.1128/spectrum.02398-22

85. *Lin K., Guo J., Guo X., Li Q., Li X., Sun Z., Zhao Z., Weng J., Wu J., Zhang R., Li B.* Fast and visual detection of nucleic acids using a one-step RPA-CRISPR detection (ORCD) system unrestricted by the PAM // Anal. Chim. Acta. 2023. V. 1248. Article 340938.
DOI: 10.1016/j.aca.2023.340938

86. *Wang P., Guo B., Zhang X., Wang Y., Yang G., Shen H., Gao S., Zhang L.* One-pot molecular diagnosis of acute hepatopancreatic necrosis disease by recombinase polymerase amplification and CRISPR/Cas12a with specially designed crRNA // J. Agric. Food Chem. 2023. V. 71. № 16. P. 6490.
DOI: 10.1021/acs.jafc.2c08689

87. *Chen J.S., Ma E., Harrington L.B., Da Costa M., Tian X., Palefsky J.M., Doudna J.A.* CRISPR-Cas12a target binding unleashes indiscriminate single-stranded DNase activity // Science. 2018. V. 360. № 6387. P. 436.
DOI: 10.1126/science.aar6245

88. *Wang B., Wang R., Wang D., Wu J., Li J., Wang J., Liu H., Wang Y.* Cas12aVDet: A CRISPR/Cas12a-based platform for rapid and visual nucleic acid detection // Anal. Chem. 2019. V. 91. № 19. P. 12156.
DOI: 10.1021/acs.analchem.9b01526

89. *Xiao Y., Ren H., Wang H., Zou D., Liu Y., Li H., Hu P., Li Y., Liu Z., Lu S.* A rapid and inexpensive nucleic acid detection platform for Listeria monocytogenes based on the CRISPR/Cas12a system // Talanta. 2023. V. 259. Article 124558.
DOI: 10.1016/j.talanta.2023.124558

90. *Jiao J., Liu Y., Yang M., Zheng J., Liu C., Ye W., Song S., Bai T., Song C., Wang M., Shi J., Wan R., Zhang K., Hao P., Feng J., Zheng X.* The engineered CRISPR-Mb2Cas12a variant enables sensitive and fast nucleic acid-based pathogens diagnostics in the field // Plant Biotechnol. J. 2023. V. 21. P. 1465.
DOI: 10.1111/pbi.14051

91. *Jiang T., Hu X., Lin C., Xia Z., Yang W., Zhu Y., Xu H., Tang H., Shen J.* Rapid visualization of Clostridioides difficile toxins A and B by multiplex RPA combined with CRISPR-Cas12a // Front. Microbiol. 2023. V. 14. Article 1119395.
DOI: 10.3389/fmicb.2023.1119395

92. *Deng L., He X., Liu K., Li Y., Xia H., Qian H., Lu X., Mao X., Xiang Y.* One-pot RPA-Cas12a assay for instant and visual detection of Burkholderia pseudomallei // Anal. Chim. Acta. 2023. V. 1252. Article 341059.
DOI: 10.1016/j.aca.2023.341059

93. *Hao J., Xie L., Yang T., Huo Z., Liu G., Liu Y., Xiong W., Zeng Z.* Naked-eye on-site detection platform for Pasteurella multocida based on the CRISPR-Cas12a system coupled with recombinase polymerase amplification // Talanta. 2023. V. 255. Article 124220.
DOI: 10.1016/j.talanta.2022.124220

94. *Aman R., Mahas A., Marsic T., Hassan N., Mahfouz M.M.* Efficient, rapid, and sensitive detection of plant RNA viruses with one-pot RT-RPA-CRISPR/Cas12a Assay // Front. Microbiol. 2020. V. 11. Article 610872.
DOI: 10.3389/fmicb.2020.610872

95. *Liu S., Tao D., Liao Y., Yang Y., Sun S., Zhao Y., Yang P., Tang Y., Chen B., Liu Y., Xie S., Tang Z.* Highly sensitive CRISPR/Cas12a-Based fluorescence detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus // ACS Synth. Biol. 2021. V. 10. № 10. P. 2499.
DOI: 10.1021/acssynbio.1c00103

96. *Xiong Y., Cao G., Chen X., Yang J., Shi M., Wang Y., Nie F., Huo D., Hou C.* One-pot platform for rapid detecting virus utilizing recombinase polymerase amplification and CRISPR/Cas12a // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2022. V. 106. № 12. P. 4607.
DOI: 10.1007/s00253-022-12015-9

97. *Qin C., Liu J., Zhu W., Zeng M., Xu K., Ding J., Zhou H., Zhu J., Ke Y., Li L.Y., Sheng G., Li Z., Luo H., Jiang S., Chen K., Ding X., Meng H.* One-pot visual detection of african swine fever virus using CRISPR-Cas12a // Front. Vet. Sci. 2022. V. 9. Article 962438.
DOI: 10.3389/fvets.2022.962438

98. *Lin M., Yue H., Tian T., Xiong E., Zhu D., Jiang Y., Zhou X.* Glycerol additive boosts 100-fold sensitivity enhancement for one-pot RPA-CRISPR/Cas12a assay // Anal. Chem. 2022. V. 94. № 23. P. 8277.
DOI: 10.1021/acs.analchem.2c00616

99. *Shao F., Park J.S., Zhao G., Hsieh K., Wang T.H.* Elucidating the role of CRISPR/Cas in single-step isothermal nucleic acid amplification testing assays // Anal. Chem. 2023. V. 95. № 7. P. 3873.
DOI: 10.1021/acs.analchem.2c05632

100. *Tang G., Zhang Z., Tan W., Long F., Sun J., Li Y., Zou S., Yang Y., Cai K., Li S., Wang Z., Liu J., Mao G., Ma Y, Zhao G.P., Tian Z.G., Zhao W.* RT-RPA-Cas12a-based assay facilitates the discrimination of SARS-CoV-2 variants of concern // Sens. Actuators B: Chem. 2023. V. 381. Article 133433.
DOI: 10.1016/j.snb.2023.133433

101. *Zhu Y., Lin C., Xu H., Xia Z., Yang W., Tang H., Hu X., Jiang T., Liu Z., Shen J.* Establishment and methodological evaluation of a method for rapid detection of helicobacter pylori and virulence genes based on CRISPR-Cas12a // Infect. Drug Resist. 2023. V. 16. P. 435.
DOI: 10.2147/idr.s398098

102. *Jiao J., Kong K., Han J., Song S., Bai T., Song C., Wang M., Yan Z., Zhang H., Zhang R., Feng J., Zheng X.* Field detection of multiple RNA viruses/viroids in apple using a CRISPR/Cas12a-based visual assay // Plant Biotechnol. J. 2021. V. 19. № 2. P. 394.
DOI: 10.1111/pbi.13474

103. *Zhang W.S., Pan J., Li F., Zhu M., Xu M., Zhu H., Yu Y., Su G.* Reverse transcription recombinase polymerase amplification coupled with CRISPR-Cas12a for facile and highly sensitive colorimetric SARS-CoV-2 detection // Anal. Chem. 2021. V. 93. № 8. P. 4126.
DOI: 10.1021/acs.analchem.1c00013

104. *Wei L., Wang Z., Wang J., Wang X., Chen Y.* Aptamer-based colorimetric detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus by using a CRISPR/Cas12a system and recombinase polymerase amplification // Anal. Chim. Acta. 2022. V. 1230. Article 340357.
DOI: 10.1016/j.aca.2022.340357

105. *Qian C., Wang R., Wu H., Zhang F., Wu J., Wang L.* Uracil-mediated new photospacer-adjacent motif of Cas12a to realize visualized DNA detection at the single-copy level free from contamination // Anal. Chem. 2019. V. 91. № 17. P. 11362.
DOI: 10.1021/acs.analchem.9b02554

106. *Chen Y., Shi Y., Chen Y., Yang Z., Wu H., Zhou Z., Li J., Ping J., He L., Shen H., Chen Z., Wu J., Yu Y., Zhang Y., Chen H.* Contamination-free visual detection of SARS-CoV-2 with CRISPR/Cas12a: A promising method in the point-of-care detection // Biosens. Bioelectron. 2020. V. 169. Article 112642.
DOI: 10.1016/j.bios.2020.112642

107. *Wang R., Qian C., Pang Y., Li M., Yang Y., Ma H., Zhao M., Qian F., Yu H., Liu Z., Ni T., Zheng Y., Wang Y.* opvCRISPR: One-pot visual RT-LAMP-CRISPR platform for SARS-cov-2 detection // Biosens. Bioelectron. 2021. V. 172. Article 112766.
DOI: 10.1016/j.bios.2020.112766

108. *Pang B., Xu J., Liu Y., Peng H., Feng W., Cao Y., Wu J., Xiao H., Pabbaraju K., Tipples G., Joyce M.A., Saffran H.A., Tyrrell D.L., Zhang H., Le X.C.* Isothermal amplification and ambient visualization in a single tube for the detection of SARS-CoV-2 using loop-mediated amplification and CRISPR technology // Anal. Chem. 2020. V. 92. № 24. P. 16204.
DOI: 10.1021/acs.analchem.0c04047

109. *Park B.J., Park M.S., Lee J.M., Song Y.J.* Specific detection of influenza A and B viruses by CRISPR-Cas12a-based assay // Biosensors (Basel). 2021. V. 11. № 3. Article 88.
DOI: 10.3390/bios11030088

110. *Ding R., Long J., Yuan M., Zheng X., Shen Y., Jin Y., Yang H., Li H., Chen S., Duan G.* CRISPR/Cas12-based ultra-sensitive and specific point-of-care detection of HBV // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. № 9. Article 4842.
DOI: 10.3390/ijms22094842

111. *Cao Y., Wu J., Pang B., Zhang H., Le X.C.* CRISPR/Cas12a-mediated gold nanoparticle aggregation for colorimetric detection of SARS-CoV-2 // Chem. Commun. (Camb.). 2021. V. 57. № 56. P. 6871.
DOI: 10.1039/d1cc02546e

112. *Figueiredo D., Cascalheira A., Goncalves J.* Rapid, multiplex detection of SARS-CoV-2 using isothermal amplification coupled with CRISPR-Cas12a // Sci.

Rep. 2023. V. 13. № 1. Article 849.
DOI: 10.1038/s41598-022-27133-7

113. *Su G., Zhu M., Li D., Xu M., Zhu Y., Zhang Y., Zhu H., Li F., Yu Y.* Multiplexed lateral flow assay integrated with orthogonal CRISPR-Cas system for SARS-CoV-2 detection // Sens. Actuators B: Chem. 2022. V. 371. Article 132537.
DOI: 10.1016/j.snb.2022.132537

114. *Li L., Li S., Wu N., Wu J., Wang G., Zhao G., Wang J.* HOLMESv2: A CRISPR-Cas12b-assisted platform for nucleic acid detection and DNA methylation quantitation // ACS Synth. Biol. 2019. V. 8. № 10. P. 2228.
DOI: 10.1021/acssynbio.9b00209

115. *Nguyen L.T., Macaluso N.C., Pizzano B.L.M., Cash M.N., Spacek J., Karasek J., Miller M.R., Lednicky J.A., Dinglasan R.R., Salemi M., Jain P.K.* A thermostable Cas12b from Brevibacillus leverages one-pot discrimination of SARS-CoV-2 variants of concern // eBioMedicine. 2022. V. 77. Article 103926.
DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.103926

116. *Song J., El-Tholoth M., Li Y., Graham-Wooten J., Liang Y., Li J., Li W., Weiss S.R., Collman R.G., Bau H.H.* Single- and two-stage, closed-tube, point-of-care, molecular detection of SARS-CoV-2 // Anal. Chem. 2021. V. 93. № 38. P. 13063.
DOI: 10.1021/acs.analchem.1c03016

117. *Seok Y., Yin Q., Bai H., Bau H.H.* Sensitive, single-pot, two-stage assay for hepatitis viruses // Anal. Chem. 2022. V. 94. № 3. P. 1778.
DOI: 10.1021/acs.analchem.1c04480

*ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ, 2024, том 79, № 3, с. 229–236*

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

*УДК 543.068.8*

# ЭКСПРЕСС-ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ЦЕФАЛОСПОРИНОВ С ПОМОЩЬЮ ИММОБИЛИЗОВАННОГО *пара*-ДИМЕТИЛАМИНОБЕНЗАЛЬДЕГИДА

**© 2024 г. А. В. Тумская[a],*, И. В. Косырева[a]**

[a] *Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского ул. Астраханская, 83, Саратов, 410012, Россия*

** E-mail: marakaeva_anastasiya@mail.ru*

Поступила в редакцию 06.04.2023 г.
После доработки 04.05.2023 г.
Принята к публикации 05.05.2023 г.

Предложены индикаторные бумаги с иммобилизованным пара-диметиламинобензальдегидом для визуально-колориметрического и цветометрического определения антибактериальных соединений группы цефалоспоринов (цефалексина, цефуроксима, цефотаксима, цефтриаксона, цефазолина) с применением камеры смартфона. Оценено влияние условий и типа фоторегистрирующего устройства. Правильность разработанных экспресс-методик оценивали способом введено–найдено, методики характеризуются удовлетворительной воспроизводимостью результатов (sr не превышает 19%). Проведен анализ лекарственных препаратов – таблеток “Аксосеф” и капсул “Цефалексин”, найденные содержания цефалоспоринов согласуются с заявленными интервалами их содержаний в препаратах.

**Ключевые слова:** экспресс-определение, индикаторная бумага, цветометрия, *пара*-диметиламинобензальдегид, цефалоспорин.

**DOI:** 10.31857/S0044450224030039, **EDN:** vrjchz

Цефалоспорины, антибактериальные препараты из группы β-лактамов, отличаются широким спектром антибактериальной активности в отношении многих грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Большинство соединений входит в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов [1].

Молекулы цефалоспоринов (схема 1) содержат функциональные группы, которые потенциально могут участвовать в реакциях с хромофорными группами молекул-реагентов. В молекулах цефалоспоринов помимо β-лактамного кольца присутствуют ароматические структуры ряда тиазола, тиадиазола, фурана и т.д. и функциональные группы $-NH_2$, $-OH$, $-COOH$, $>C=O$.

Цефалоспориновые антибиотики в таблетках, капсулах, мазях и других лекарственных формах идентифицируют с помощью современных физико-химических методов. Методы ИК-, УФ-спектроскопии включены в Государственную и Международную фармакопею.

Содержание цефалоспоринов определяют методами флуоресцентной спектроскопии [2, 3] и ВЭЖХ [4]. В качестве реагентов предложены реагент Фолина–Чокалтеу [5], 1,2-нафтохинон-4-сульфонат [2], сульфат меди(II) [6]. Однако предложенные способы определения цефалоспоринов занимают длительное время. Таким образом, разработка недорогих и экспрессных способов определения антибактериальных препаратов весьма актуальна.

Цель настоящей работы – разработка способов экспресс-определения некоторых цефалоспориновых антибиотиков с помощью индикаторных бумаг с иммобилизованным *пара*-диметиламинобензальдегидом (**ДМАБ**) и с применением камеры смартфона.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Объекты исследования.** Применяли цефалоспориновые антибиотики цефалексин (**ЦФЛ**, Sigma Aldrich, США), цефуроксим (**ЦФР**, Зинацеф, GlaxoSmithKline Manufacturing S.p.A, Италия), цефотаксим (**ЦФТ**, Биохимик, Россия), цефтриаксон (**ЦФТР**, Синтез, Россия),

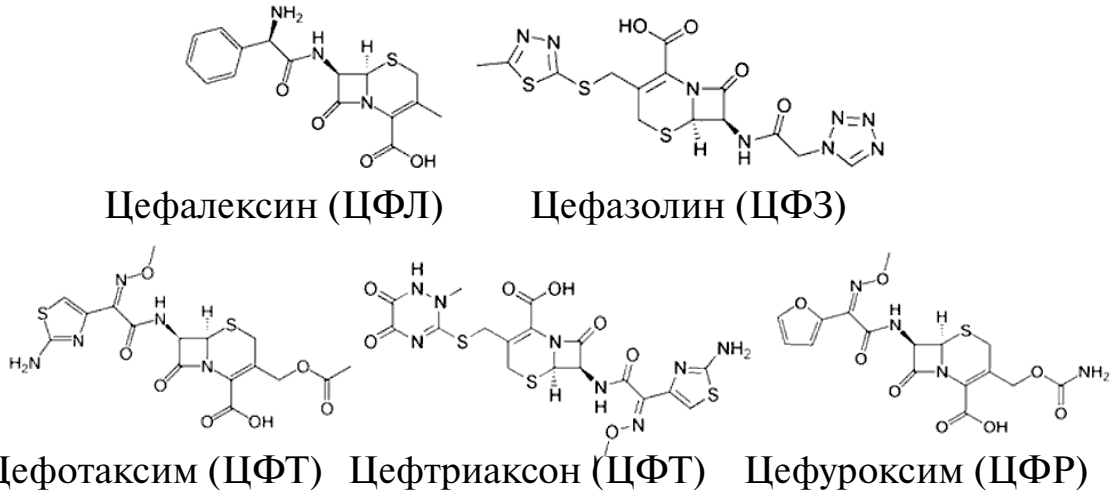


**Схема 1.** Структурные формулы исследуемых цефалоспоринов.

цефазолин (**ЦФЗ**, Биосинтез, Россия). Исходные растворы антибиотиков готовили растворением навески соответствующего препарата в дистиллированной воде. Рабочие растворы готовили в день проведения эксперимента разбавлением исходного раствора.

**Реактивы и материалы.** Спиртовый 0.05 М раствор *пара*-диметиламинобензальдегида (Реахим, Россия) готовили растворением навески препарата в этаноле.

В качестве матрицы для создания тест-средств применяли целлюлозную бумагу (фильтры обеззоленные "синяя лента", ТУ 2642-001-13927158-2003).

**Оборудование и методики исследования.** *Спектры диффузного отражения* регистрировали на двулучевом сканирующем спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Япония) с интегрирующей сферой ISR-2200 (Shimadzu, Япония) для анализа твердых образцов; диапазон измерения 200–800 нм. Измеренные значения диффузного отражения ($R$) пересчитывали в функцию Гуревича–Кубелки–Мунка ($F$) по формуле: $F = (1 - R)^2/2R$.

*Для получения изображений* тест-средства помещали в бокс размером 22×23×24 см с двумя полосками светодиодного освещения (5 V, 1 A) и фотографировали камерой смартфона Redmi 6A (на базе ОС Android). Изображения сохраняли в формате.jpg, размер 1 560×1 560 пикселей (формат кадра 18:9, качество фото "высокое").

*Сканирование изображений* проводили с применением сканера EPSON с разрешением 1 200 dpi (качество сканирования "наилучшее", тип изображения "цветной 48-бит").

*Для получения тест-средств* целлюлозную бумагу обрабатывали свежеприготовленным спиртовым раствором ДМАБ (0.05 М), при этом полученные индикаторные бумаги не изменяли цвет.

*Для приготовления цветовой шкалы* концентрации антибиотиков подбирали в соответствии с методиками, предложенными в работах [7–9].

Предел обнаружения (**ПрО**) определяли в соответствии с методикой, рекомендованной в работе [8].

*Условия оптимизировали* (время, температура проведения реакции) в соответствии с методиками [9, 10].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Взаимодействие цефалоспоринов с *пара*-диметиламинобензальдегидом на поверхности бумаги.** В качестве индикаторной выбрали реакцию аминогрупп цефалоспоринов ($R–NH_2$) с ДМАБ (схема 2) в кислой среде. Преимуществом реакции цефалоспоринов с ДМАБ является одностадийность, отсутствие токсичных реагентов, таких как $NaNO_3$ и β-нафтол. Кроме того, исследуемые аналиты невозможно определить, с применением индикаторной системы с иммобилизованным нингидрином, предложенной в работе [10].

Реакция ДМАБ с цефуроксимом, цефтриаксоном и цефотаксимом ранее исследована спектрофотомерическм методом [11, 12]. Установлено стехиометрическое соотношение реагентов (1:1) и $\lambda_{max}$ для производных цефалоспоринов (400–420 нм,). Диапазон определяемых содержаний (**ДОС**) для цефотаксима составил 2–10 мкг/мл.

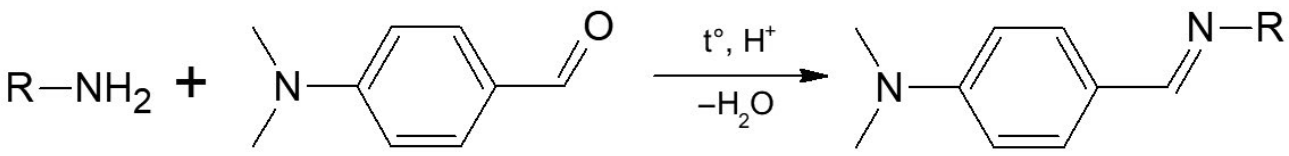


**Схема 2.** Реакция цефалоспоринов с *пара*-диметиламинобензальдегидом.

Методика определения антибиотиков включает два этапа – реакцию диазотирования при 0–5 °С и последующее взаимодействие с ДМАБ. Определены оптимальные условия проведения реакции с ДМАБ в водном растворе (15–20 мин при 50–60 °С в присутствии 0.0625 М $H_2SO_4$), а также стехиометрическое соотношение реагентов (1:1). Установлено, что $\lambda_{max}$ для производных цефалоспоринов лежит в диапазоне 400–420 нм. Ринд и соавт. [11] изучили реакцию цефотаксима натрия с ДМАБ в кислой среде и разработали методику спектрофотометрического определения антибиотика, основанную на образоапнии окрашенного продукта ($\lambda_{max}$ = 398 нм) с ДОС (2–10) мкг/мл.

В настоящей работе изучали взаимодействие цефалоспоринов (цефалексина, цефотаксима, цефтриаксона, цефазолина и цефуроксима) с *пара*-диметиламинобензальдегидом на поверхности целлюлозной матрицы. На рис. 1 представлены спектры диффузного отражения в виде функции Гуревича–Кубелки–Мунка продуктов взаимодействия цефалоспорина с иммобилизованным ДМАБ. Как видно, при добавлении антибиотика в систему появляется полоса в области 415–430 нм.

Необходимо отметить различия в структурах исследуемых цефалоспоринов. Так, в молекуле ЦФЛ первичная аминогруппа в боковой цепи молекулы сопряжена с группой С=О; в молекулах ЦФТ и ЦФТР $NH_2$-группа расположена в тиазольном кольце; в молекуле ЦФР содержится карбаматная группа $OC(O)NH_2$; при этом в молекуле цефазолина первичные аминогруппы вовсе отсутствуют. Так как реакция с ДМАБ протекает в кислой среде, возможно раскрытие β-лактамного кольца с образованием производного 1,3-тиазина (схема 3). Известно, что солянокислый раствор ДМАБ (реактив Эрлиха) применяют для определения химически сходных структур, в частности индола [13, 14].

Для выбора оптимального значения pH на индикаторную бумагу с иммобилизованным ДМАБ наносили анализируемый раствор антибиотика в среде ацетатно-аммиачного буферного раствора (pH 3 и 4) либо в среде 0.1 М HCl, далее тест-средства нагревали в течение 10 мин при 80 °С. Установили, что наиболее контрастная окраска тест-средств и наибольшее значение изменения интенсивности цветового параметра Blue ($\Delta I_{Blue}$, табл. 1) по сравнению с контрольным образцом наблюдается в присутствии 0.1 М HCl.

Цветометрически исследовали влияние температуры и продолжительности реакции цефалоспоринов с иммобилизованным ДМАБ (рис. 2). Как видно из рисунка, для исследуемых систем через ~20–25 мин при 90 °С значения $\Delta I$Blue максимальны, а тест-средства имеют наиболее интенсивную окраску.

Выбранные оптимальные условия (20–25 мин, 90 °С, 0.1 М HCl) применяли при получении цветовых шкал для визуально-колориметрического и цветометрического определения исследуемых антибиотиков.

Визуально-колориметрическое определение цефалоспоринов. Оценивали основные метрологические характеристики разработанных методик с визуальной индикацией

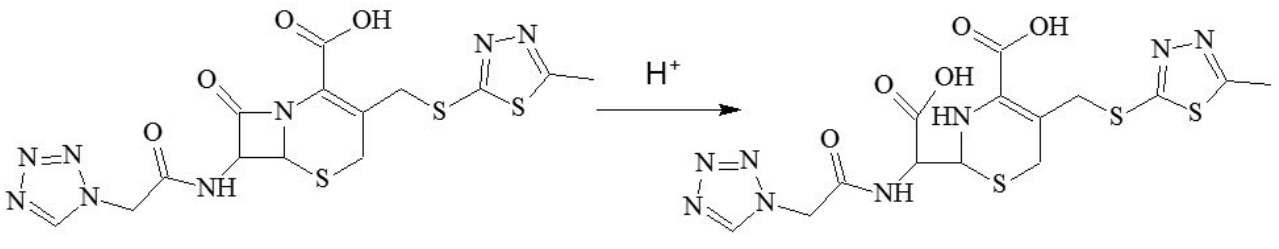


**Схема 3**. Раскрытие β-лактамного кольца молекуле цефазолина в кислой среде.

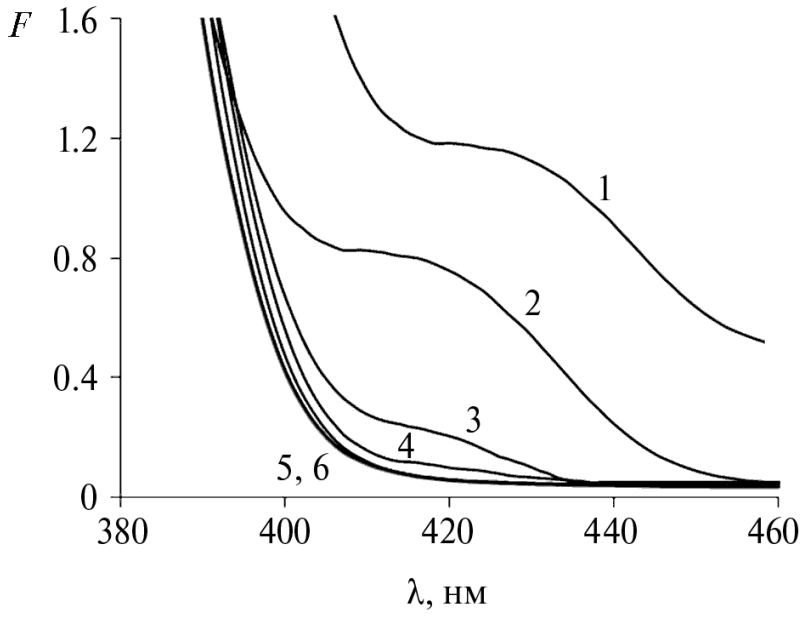


**Рис. 1.** Спектры диффузного отражения в виде функции Гуревича – Кубелки – Мунка для систем цефалоспорин–иммобилизованный *пара*-диметиламинобензальдегид (ДМАБ). *1* – цефотаксим, *2* – цефалексин, *3* – цефуроксим, *4* – цефазолин, *5* – цефтриаксон, *6* – ДМАБ; 95 °С, 15 мин, 0.1 М HCl.

**Таблица 1.** Значения изменения интенсивностей параметра Blue (D

| Аналит | pH 3 | pH 4 | 0.1 M HCl |
|---|---|---|---|
| ЦФЛ | 56±5 | 50±5 | 72±3 |
| ЦФР | 21±6 | 10±5 | 26±5 |
| ЦФТ | 43±5 | 11±6 | 67±5 |
| ЦФЗ | 92±5 | 89±4 | 94±5 |
| ЦФТР | 78±4 | 82±5 | 88±4 |

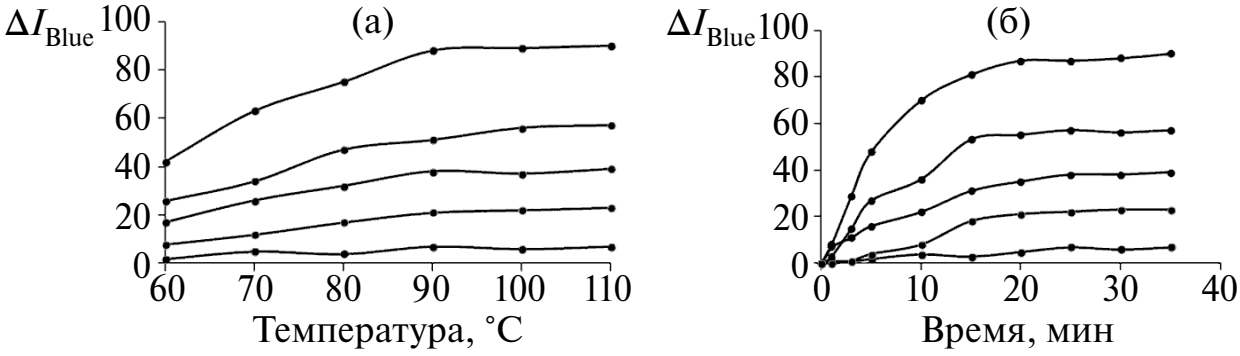


**Рис. 2.** Зависимости ΔIBlue от температуры нагревания (а), от времени нагревания цефалоспоринов с иммобилизованным пара-диметиламинобензальдегидом (б): 1 –– цефуроксим, 2 – цефалексин, 3 – цефотаксим, 4 – цефтриаксон, 5 – цефазолин. 4 мг/мл, 0.1 М HCl.

цефалоспоринов – интервал ненадежности (ИН) и предел обнаружения аналита. Для оценки достоверности методик с визуальной индикацией применяли зависимости вероятности обнаружения аналита $P(c)$ от его концентрации.

Вероятность обнаружения вычисляли по формуле: $P(c_i) = n_i/N_i$, где $n_i$ – число положительных наблюдений, $N_i$ – общее число испытаний для концентрации $c_i$. Соответствующие зависимости вероятностей обнаружения цефалоспоринов от их концентрации в интервале ненадежности индикаторной реакции представлены на рис. 3 и в табл. 2.

Установлены диапазоны определяемых содержаний (от 0.13 до 16 мг/мл), интервалы ненадежности индикаторных реакций (от 0.05 до 1.7 мг/мл), а также пределы обнаружения (от 0.12 до 1.7 мг/мл) цефалоспоринов при их визуально-колориметрическом определении.

Цветометрическое определение цефалоспоринов. Цветометрическую обработку изображений тест-средств проводили в разработанной ранее онлайн-программе по определению R, G, B-параметров [15] в разработанном нами приложении к смартфону [16], либо в коммерческой программе Adobe Photoshop® (табл. 3).

При цветометрическом определении цефалоспоринов строили зависимости оптимального (по чувствительности и коэффициенту регрессии) цветового канала от концентрации аналита. Некоторые метрологические характеристики цветометрических методик определения цефалоспоринов с помощью индикаторных бумаг представлены в табл. 4.

Благодаря простоте применения, портативности и возможности хранения информации смартфоны являются одними из наиболее распространенных фоторегистрирующих устройств [15, 17, 18]. Такой способ позволяет проводить цветометрическую оценку в режиме онлайн без подключения к дополнительному оборудованию. В настоящем исследовании для оценки влияния типа фоторегистрирующего устройства применяли различные марки смартфонов (Redmi 6A, Lenovo K6 Power), а также офисный планшетный сканер (Epson). Изображения тест-средств регистрировали без применения специализированных устройств, а также в боксе для фотографирования (с двумя полосками светодиодного освещения (5 V, 1 A)). В табл. 5 представлены уравнения регрессии градуировочных зависимостей, а также значения изменения интенсивностей параметра Blue, полученные при варьировании типа и условий фотографирования. Как видно, значения $\Delta I_{Blue}$, а также уравнения градуировочных зависимостей одинаковы в пределах доверительного интервала (значения $\Delta I$ от 61 до 66). Таким образом, тип фоторегистрирующего устройства и условия фотографирования не влияют на полученные результаты.

Правильность разработанных экспресс-методик оценивали способом введено–найдено (табл. 6). Как видно из таблицы, значения относительного стандартного отклонения ($s_r$) для разработанных экспресс-методик находятся в диапазоне от 9 до 19% для всех анализируемых цефалоспоринов, что свидетельствует о возможности применения разработанной экспресс-методики для определения антибиотиков с погрешностью, не превышающей 19%.

Определение антибиотиков в лекарственных препаратах. Разработанные тест-средства апробировали при оценке содержания цефалоспоринов в лекарственных препаратах (“Аксосеф” (цефуроксим) таблетки, “Цефалексин” капсулы). При тест-определении содержания антибиотика каплю анализируемого раствора наносили на индикаторную бумагу, нагревали и оценивали содержание антибиотика с помощью разработанных методик визуального и цветометрического определения (табл. 7). Найденные в препаратах содержания цефуроксима и цефалексина согласуются с заявленными интервалами

**Таблица 2.** Некоторые метрологические характеристики методик визуального-колориметрического определения цефалоспоринов

| Аналит | ДОС, мг/мл | ИН, мг/мл | ПрО, мг/мл |
|---|---|---|---|
| ЦФР | 2.0–16 | 1.4–1.7 | 1.7 |
| ЦФЛ | 0.25–8.0 | 0.06–0.17 | 0.17 |
| ЦФТ | 0.13–16 | 0.05–0.12 | 0.12 |
| ЦФТР | 1.0–16 | 0.82–1.0 | 1.0 |
| ЦФЗ | 2.0–16 | 1.1–1.3 | 1.3 |

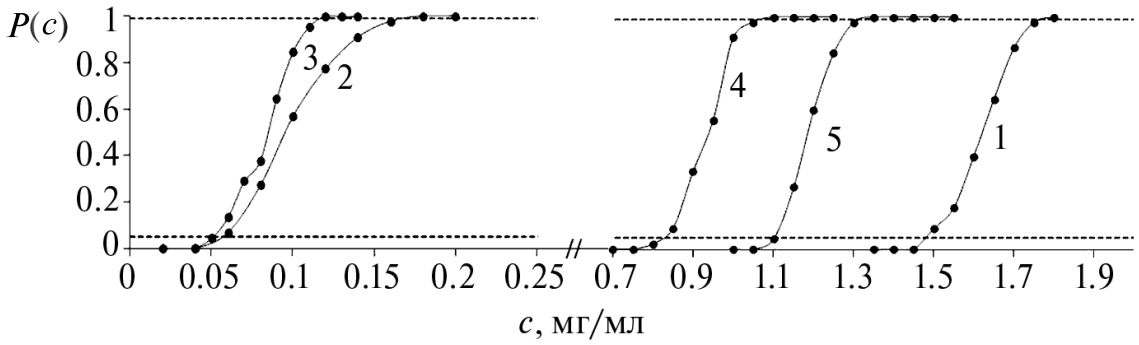


**Рис. 3.** Зависимости вероятности обнаружения антибиотиков от их концентрации (мг/мл) в интервале ненадежности. *1* – цефуроксим, *2* – цефалексин, *3* – цефотаксим, *4* – цефтриаксон, *5* – цефазолин.

**Таблица 3.** Адекватность цифровых технологий для регистрации некоторых цветовых параметров

| Цветовой параметр | Программа | | |
|---|---|---|---|
| | Adobe Photoshop® | авторская программа по определению RGB-параметров | авторское приложение для смартфона |
| Red | 83±4 | 83±5 | 83±3 |
| Green | 98±3 | 99±4 | 98±4 |
| Blue | 91±4 | 91±4 | 91±4 |

**Таблица 4**. Некоторые характеристики цветометрических методик определения цефалоспоринов

| Аналит | Диапазон линейности, мг/мл | Уравнение регрессии | $r^2$ | ПрО, мг/мл |
|---|---|---|---|---|
| ЦФЛ | 0.25–16 | $y = -33.0x + 136$ | 0.98 | 0.23 |
| ЦФТР | 0.50–16 | $y = -46.2x + 143$ | 0.98 | 0.25 |
| ЦФР | 2.0–16 | $y = -34.8x + 181$ | 0.95 | 0.34 |
| ЦФТ | 0.13–16 | $y = -50.9x + 127$ | 0.99 | 0.10 |
| ЦФЗ | 1.0–16 | $y = 45.7x + 165$ | 0.94 | 0.28 |

**Таблица 5.** Уравнения градуировочных зависимостей при определении цефалексина с помощью иммобилизованного *пара*-диметиламинобензальдегида

| Устройство для регистрации изображений | *D* | Уравнение; $r^2$ |
|---|---|---|
| Камера смартфона Redmi 6A | 65±5*<br>64±4 | $y = -33x + 136$; 0.98<br>$y = -32x + 159$; 0.98 |
| Камера смартфона Lenovo K6 Power | 66±5*<br>61±4 | $y = -32x + 166$; 0.97<br>$y = -33x + 139$; 0.97 |
| Сканер EPSON | 66±5 | $y = -33x + 222$; 0.98 |

*Бокс для фотографирования с двумя полосками светодиодного освещения (5 V, 1 A).

содержаний определяемых компонентов в коммерческих лекарственных препаратах. Таким образом, разработанные тест-средства можно применять для полуколичественного определения цефуроксима и цефалексина. Разработанные методики с применением смартфона в качестве регистрирующего устройства можно использовать в бытовых условиях. Предложенные методики не могут быть использованы в фармацевтической промышленности для контроля качества

**Таблица 6.** Оценка правильности цветометрического определения β-лактамов способом введено–найдено (введено 10 мг/мл аналита; $n = 3$, $P = 0.95$; цветовой параметр Blue)

| Аналит | Найдено, мг/мл | $s_r$ |
|---|---|---|
| ЦФЛ | 9±1 | 0.13 |
| ЦФР | 10±1 | 0.16 |
| ЦФТ | 10±1 | 0.09 |
| ЦФТР | 10±1 | 0.18 |
| ЦФЗ | 9±1 | 0.19 |

**Таблица 7.** Результаты (мг) определения содержания цефалоспоринов в лекарственных препаратах с помощью разработанных индикаторных бумаг ($n = 3$, $P = 0.95$)

| Заявлено в препарате, мг | Визуальная оценка | Цветометрическая оценка | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $I_{Blue}$ (авторское приложение) | $s_r$ | $I_{Blue}$ (Adobe Photoshop) | $s_r$ | $I_{Blue}$ (авторская программа) | $s_r$ |
| “Аксосеф”, 250 | 250±50 | 230±25 | 0.13 | 230±35 | 0.11 | 230±30 | 0.11 |
| “ЦФЛ”, 500 | 500±100 | 520±50 | 0.11 | 490±40 | 0.17 | 480±540 | 0.10 |

продукции. Такой подход возможен только для первичного скрининга.

*Финансовая поддержка работы осуществлялась за счет средств гранта РНФ в рамках научного проекта № 22-23-00420.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ


1. Распоряжение Правительства РФ от 12.10.2019 № 2406-р (ред. от 06.10.2022) “Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов, а также перечней лекарственных препаратов для медицинского применения и минимального ассортимента лекарственных препаратов, необходимых для оказания медицинской помощи”.
2. *Elbashir A.A., Ali S.M., Aboul-Enein H.Y.* Optimization and validation of spectrofluorimetric method for determination of cefadroxile and cefuroxime sodium in pharmaceutical formulations // Luminescence. 2013. V. 28. P. 490.
3. *Derayea S.M., Ahmed H.M., Abdelmageed O.H., Haredy A.M.* New valid spectrofluorimetric method for determination of selected cephalosporins in different pharmaceutical formulations using safranin as fluorophore // Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc. 2016. V. 153. P. 655.
4. *Wu S.G., Lai E.P. C., Mayer P.M.* Molecularly imprinted solid phase extraction–pulsed elution–mass spectrometry for determination of cephalexin and α-aminocephalosporin antibiotics in human serum // J. Pharm. Biomed. Anal. 2004. V. 36. № . 3. P. 483.
5. *Patel S.A., Patel N.M., Patel M.M.* Spectrophotometric methods for the estimation of Cephalexin in tablet dosage forms // Indian. J. Pharm. Sci. 2006. V. 68. P. 278.
6. *Božić B., Korać J., Stanković D.M., Stanić M., Romanović M., Pristov J.B., Spasić S., Popović-Bijelić A., Bajčetić, M.* Coordination and redox interactions of β-lactam antibiotics with Cu2+ in physiological settings and the impact on antibacterial activity // Free Radic. Biol. Med. 2018. Vol. 129. P. 279–285.
7. *Холин Ю.В. Никитина Н.А., Пантелеймонов А.В., Решетняк Е.А., Бугаевский А.А., Логинова Л.П.* Метрологические характеристики методик обнаружения с бинарным откликом. Харьков: Тимченко, 2008. 128 с.
8. Общая фармакопейная статья ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М., 2018.
9. *Тумская А.В., Доронин В.С., Косырева И.В., Доронин С.Ю.* Способы экспресс-определения гентамицина // Бутлеровские сообщения. 2021. Т. 67. № 8. С. 79.
10. *Тумская А.В., Косырева И.В.* Экспресс-определение некоторых бета-лактамных антибиотиков // Журн. аналит. химии. 2022. Т. 77. № 8. С. 742.
11. *Adegoke O.A., Quadri M.O.* Novel spectrophotometric determinations of some cephalosporins following azo dye

formation with p-dimethylaminobenzaldehyde // Arab. J. Chem. 2016. V. 9. P. S1272.

12. *Rind F.M. A., Almani F., Maheshwari M.L., Memon A.H., Mughal U.R., Lagharl M.G.H, Memon N., Khuhawar M.Y.* Spectrophotometric determination of cefotaxime Sodium using 4-dimethylaminobenzaldehyde as a Derivatizing reagent // Sci. In. (Lahore). 2009. V. 21. № 3. P. 177.
13. *Lamb A.C., Federico-Perez R. A., Xue Z.L.* Product in indole detection by Ehrlich's reagent // Anal. biochem. 2015. V. 484. P. 21.
14. *Файгль Ф.* Капельный анализ органических веществ. М.: Госхимиздат, 1962. 836 с.
15. *Габидулина М.К., Говорухин В.А., Доронин С.Ю., Косырева И.В., Ли Е.П., Маракаева А.В., Такшаитова Э.И.* Программа для обработки цветометрических параметров тест-средств в химическом анализе // Материалы междунар. науч. конф. "Компьютерные науки и информационные технологии". Саратов: Издат. центр "Наука", 2018. С. 93.
16. *Tumskaia A.V., Loginov I.V., Tumskiy R.S., Kosyreva I.V.* Simple and rapid determination of cephalexin by digital colorimetry using a laboratory-developed smartphone application // Instrum. Sci. Technol. 2022. V. 50. № . 2. P. 190.
17. *Амелин В.Г., Чалави Ш.З. А., Большаков Д.С., Третьяков А.В.* Цифровая цветометрия индикаторных тест-систем с использованием смартфона и хемометрического анализа при определении тетрациклинов в лекарственных препаратах // Изв. вузов. Химия и хим. технология. 2022. Т. 65. № . 7. С. 17.
18. *Апяри В., Горбунова М.В., Исаченко А.И., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А.* Использование бытовых цветорегистрирующих устройств в количественном химическом анализе // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72. № . 11. С. 963.

*ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ, 2024, том 79, № 3, с. 237–243*

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

*УДК 543.423*

# ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК НА ХАРАКТЕР ИСПАРЕНИЯ ТРУДНОЛЕТУЧИХ ПРИМЕСЕЙ ПРИ ИХ ДУГОВОМ АТОМНО-ЭМИССИОННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ В АЛЮМИНИИ И ЕГО ОКСИДЕ

**© 2024 г. Н. И. Золотарева[a],*, С. С. Гражулене[a]**

[a] *Институт проблем технологии микроэлектроники и особочистых материалов Российской академии наук, ул. Академика Осипьяна, 6, Черноголовка, Московская обл., 142432, Россия*

[*] *E-mail: zol@iptm.ru*

Поступила в редакцию 24.03.2023 г.
После доработки 26.06.2023 г.
Принята к публикации 03.07.2023 г.

Изучено влияние химически активных фторсодержащих добавок $AlF_3$, AgF и $ZnF_2$ на характер испарения труднолетучих элементов, B, Be, Cr, Hf, Mo, Si, Ti и V из оксида алюминия в дуге постоянного тока. Найдено, что в присутствии этих добавок происходит значительный рост интенсивности спектральных линий и уменьшение времени полного испарения из электрода для всех исследуемых элементов, что свидетельствует об образовании в кратере электрода их легколетучих фторидов. Показано, что наиболее эффективной добавкой из исследуемых соединений является фторид цинка. Использование этой добавки позволило снизить пределы определения труднолетучих элементов в оксиде алюминия на полтора-два порядка по сравнению с вариантом без добавок, а также улучшить сходимость результатов определений.

**Ключевые слова:** дуговой атомно-эмиссионный анализ, труднолетучие элементы, оксид алюминия, химически активные фторсодержащие добавки, предел определения.

**DOI:** 10.31857/S0044450224030043, **EDN:** vqzjvs

Алюминий высокой чистоты находит широкое применение в электронике, в производстве полупроводниковых материалов, а также в технологии транзисторов, диодов и теристоров. Сравнительно малое поглощение тепловых нейтронов, высокая теплопроводность, высокая стабильность под облучением и хорошая коррозионная стойкость в воде и воздухе позволили использовать его в атомной энергетике в качестве конструкционного материала топливных элементов учебных и исследовательских реакторов. Чистый алюминий используется также для получения высокочистого оксида алюминия. Материалы, созданные на основе оксида алюминия, отличаются термостойкостью и абразивной устойчивостью, обладают высокими показателями светопропускания в УФ- и ИК-областях спектра, что делает их незаменимыми для использования в твердотельных лазерах и оптических приборах. Высокочистый оксид алюминия широко используется в настоящее время для выращивания кристаллов алюмоиттриевого граната с целью получения на его основе высококачественной оптической и конструкционной керамики, находящей широкое применение в микроэлектронике, производстве лазеров и световодов в волоконной оптике. Принципиальная возможность применения керамики во многом определяется ее химической чистотой. Например, содержание примесных элементов уже на уровне $n\times10^{-4}$ мас. % значительно снижает светопропускание [1] и люминесцентные свойства керамики [2]. В литературе отсутствуют систематизированные данные по влиянию примесей на свойства оптической керамики, а действие многих примесей не изучено. Этим определяется необходимость разработки новых методик определения примесей как в самой керамике, так и в прекурсорах, например в оксиде алюминия, с пределами определения ($c_{lim}$) элементов-примесей на уровне $n\times10^{-5}$ мас. % [3].

Анализ металлического алюминия методом прямого дугового атомно-эмиссионного анализа (**АЭА**) фактически сводится к анализу его оксида, так как перед проведением анализа металлический алюминий переводится, как правило, в оксид.

Для анализа оксида алюминия используются различные методы анализа – атомно-эмиссионная спектрометрия (**АЭС**) с возбуждением атомов в дуговом разряде [4–8], в двухструйном дуговом плазматроне (**АЭС-ДДП**) [9] и в индуктивно связанной плазме (**АЭС-ИСП**) [10–12]. Тем не менее из перечисленных методов анализа прямой АЭА в дуге постоянного тока до сих пор представляется достаточно привлекательным благодаря высокой чувствительности, экономичности и простоте пробоподготовки. Важной задачей является определение в оксиде труднолетучих элементов, например Ti, Mo и V, которые оказывают влияние на механические, электрические и оптические свойства керамических материалов. Важное значение имеет определение B и Hf в алюминии и оксиде алюминия, которые используются в атомной промышленности. Бериллий является высокотоксичным элементом, поэтому его определение важно при изготовлении изделий пищевой промышленности, а присутствие хрома влияет на окраску корунда. Определение труднолетучих элементов в тугоплавком оксиде алюминия является трудной задачей, так как высокие (около 4 000 °C и выше) температуры кипения металлов и оксидов, в виде которых они могут находиться в анализируемом материале, затрудняют их испарение из кратера электрода, что является причиной недостаточно низких $c_{lim}$.

Описанные в литературе методики прямого АЭА оксида алюминия с дуговым источником возбуждения спектров позволяют определять одновременно не более двух–четырех труднолетучих элементов [5–8] с $c_{lim}$ $4\times10^{-4}$ мас. %. Для снижения $c_{lim}$ труднолетучих B, Mo, V и Ti в работе [13] предложено сжигание пробы в тонкостенных угольных электродах с диаметром канала 3.5 мм и толщиной стенок 0.3 мм. Применение таких электродов обеспечило полное сжигание анализируемой пробы одновременно со стенками канала электрода, что способствовало увеличению интенсивности спектральных линий труднолетучих элементов-примесей и снижению их $c_{lim}$ до $5\times10^{-5}$ мас. %. Однако недостатками данной методики являются большое время экспозиции – 80 с, трудность работы с такими электродами из-за их хрупкости, а также небольшое количество одновременно определяемых труднолетучих элементов.

Известно, что наиболее эффективным способом снижения $c_{lim}$ труднолетучих элементов в тугоплавких матрицах является использование химически активной добавки [14–16], введение которой в анализируемый объект способствует образованию в кратере электрода дуги легколетучих соединений определяемых элементов и, следовательно, росту интенсивности их спектральных линий и снижению $c_{lim}$. Авторы работы [17] в качестве добавки при анализе оксида алюминия использовали хлорид натрия в соотношении 1:1 с анализируемой пробой. Однако исследование показало, что использование этой добавки практически не способствует снижению $c_{lim}$ труднолетучих элементов. Добавка $Ga_2O_3$ [18] практически не изменяет скорость испарения определяемых труднолетучих соединений примесей, а лишь стабилизирует процесс их испарения из основы и способствует улучшению сходимости их определений, в то время как использование фторсодержащей добавки $MgF_2$ способствует как ускорению испарения молибдена из электрода, так и росту интенсивности его спектральных линий [7]. Тот же эффект наблюдался в присутствии $AlF_3$ [19] и $BiF_3$ [20] при определении B, Mo, Nb, Si, Ta, V и Zr. Авторами сделан вывод о протекании реакций фторирования в кратере графитового электрода. В работе [20] также показано, что добавка NaCl, аналогично данным работы [17], неэффективна и может быть использована лишь в качестве спектрального буфера. Эффективность фторсодержащих добавок при определении труднолетучих элементов в тугоплавких матрицах доказана также нами [21, 22]. Воздействие добавок объясняется тем, что образующиеся в их присутствии фториды труднолетучих элементов являются не только легколетучими, но и достаточно устойчивыми соединениями, что позволяет им испариться из кратера электрода в виде фторидов без разложения [23]. При этом наиболее перспективными нам представляются фториды алюминия, серебра и цинка, которые выбраны для исследований в настоящей работе благодаря их устойчивости и достаточно высоким температурам кипения (1 537, 663 и 1 505 °C соответственно), которые не позволяют им испариться из кратера электрода, прежде чем пройдет фторирование определяемых элементов-примесей. Кроме того, эти добавки имеют довольно простой эмиссионный спектр, поэтому их присутствие в анализируемом образце дополнительно не усложняет проведение анализа. Таким образом, использование фторидов алюминия, серебра и цинка может оказаться весьма перспективным для снижения $c_{lim}$ труднолетучих элементов в тугоплавком оксиде алюминия прямым АЭА в дуге постоянного тока. Необходимо отметить, что решение этой практической задачи требует проведения фундаментальных исследований поведения определяемых элементов-примесей

и основы в присутствии вносимых добавок в кратере электрода дуги.

Цель настоящей работы – исследование влияния фторсодержащих соединений $AlF_3$, AgF и $ZnF_2$ на характер испарения труднолетучих примесей и основы из кратера электрода дуги постоянного тока для улучшения метрологических характеристик их определения в оксиде алюминия.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Использовали спектрограф PGS-2 с плоской дифракционной решеткой 651 штр/мм, обеспечивающий обратную линейную дисперсию 0.74 нм/мм. В качестве источника возбуждения спектров использовали дугу постоянного тока 12 А. Эмиссионные спектры регистрировали разработанной в нашей лаборатории фотоэлектрической системой регистрации с использованием линеек приборов с зарядовой связью [24].

В качестве добавок исследовали $AlF_3$, AgF и $ZnF_2$ марки ос. ч. Кривые испарения элементов строили по результатам регистрации спектров с экспозициями по 10 с до полного испарения пробы из кратера электрода. Пробу набивали в кратер нижнего электрода (анода) типа “рюмка”. Кратер “рюмки” имел глубину и диаметр 4 мм, толщину стенок 1 мм, шейку диаметром 1.5 и высотой 4 мм. Конец верхнего электрода был заточен на конус. Условия сжигания пробы выбраны опытным путём при работе с фторирующими добавками и опубликованы нами ранее [21, 22]. Использовали трехлинзовую систему освещения щели.

Образцы сравнения готовили на основе оксида алюминия ос. ч., предварительно прокаленного при 1 300 °С в платиновом тигле в течение двух часов. Примесные элементы вводили в виде их оксидов ос. ч. Концентрация примесных элементов в головном образце составляла 1 мас. % Образцы сравнения готовили методом последовательного разбавления головного эталона оксидом алюминия ос. ч. Готовили две серии образцов сравнения. О качестве приготовленных образцов судили по совпадению градуировочных графиков определяемых элементов в этих сериях.

Металлический алюминий перед проведением анализа переводили в оксид путем растворения его в азотной кислоте ос. ч. (1:1). Раствор упаривали под ИК-лампой, затем на плитке до сухого остатка. Сухой остаток нитрата алюминия прокаливали в муфельной печи 1.5 ч при 750 °С до образования оксида алюминия. В полученный оксид вводили добавку, тщательно перемешивали в ступке из оргстекла и анализировали.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что температура кипения оксида алюминия довольно высокая (2 980 °С), и при горении дуги его порошок образует в кратере электрода расплав. В результате оксид алюминия испаряется из кратера электрода в процессе горения дуги неравномерно, разбрызгивается, что является причиной низкой сходимости результатов определений. Для предотвращения образования расплава в работах [6, 7, 13] анализируемый оксид алюминия предлагается смешивать с графитовым порошком, что способствует улучшению сходимости результатов определения примесных элементов, но при этом время экспозиции увеличивается до 70–80 с. Кроме того, в присутствии графитового порошка могут образовываться карбиды труднолетучих элементов с температурами кипения около 5 000 °С, что должно приводить к значительному снижению интенсивности их спектральных линий и $c_{lim}$. В связи с этим нами изучено влияние добавки графитового порошка на характер испарения определяемых элементов. Температуры кипения определяемых элементов, а также их оксидов, в виде которых они могут присутствовать в анализируемом оксиде алюминия, приведены в табл. 1. Видно, что температуры кипения составляют около 4 000 °С.

На рис. 1а, 1б приведены кривые испарения Mo и Si из оксида алюминия без добавок, с графитовым порошком, и в присутствии графитового порошка с фторидом цинка. Из рисунка видно, что смешивание оксида алюминия с графитовым порошком приводит к значительному уменьшению интенсивности спектральных линий (кривая *2*), что нельзя объяснить лишь разбавлением графитом, так как концентрация последнего в оксиде алюминия составляет всего 30 мас. %. Вероятно, это происходит за счет образования труднолетучих карбидов. И даже введение фторирующей добавки (кривая *3*) практически не приводит к росту интенсивности линий, т.е. присутствие графитового порошка существенно снижает действие добавки фторида. Аналогичные зависимости получены и для остальных примесных элементов.

Значительный рост интенсивности спектральных линий труднолетучих элементов происходит лишь в присутствии фторирующей добавки, но в отсутствие графитового порошка (рис. 2а, 2б).

Таким образом, добавление графитового порошка при определении труднолетучих элементов

**Таблица 1.** Температуры кипения труднолетучих металлов и оксидов, а также потенциалы ионизации ($V_i$) исследуемых элементов-примесей и длины волн спектральных линий, используемые для их определения

| Элемент | λ, нм | $T_{кип}$ $Me_xO_y$, °C | $T_{кип}$ Me, °C | $V_i$, эВ |
|---|---|---|---|---|
| B | 249.772 | 1 860 | 3 865 | 8.29 |
| Be | 313.042 | 4 120 | 2 970 | 9.32 |
| Cr | 302.156 | 4 000 | 3 800 | 6.76 |
| Hf | 277.335 | 5 400 | 4 600 | 6.82 |
| Mo | 315.82 | 1 200 | 4 639 | 7.10 |
| Si | 288.160 | 2 950 | 2 355 | 8.15 |
| Ti | 307.865 | 2 972 | 3 560 | 6.84 |
| V | 310.229 | 2 030 | 3 650 | 6.74 |

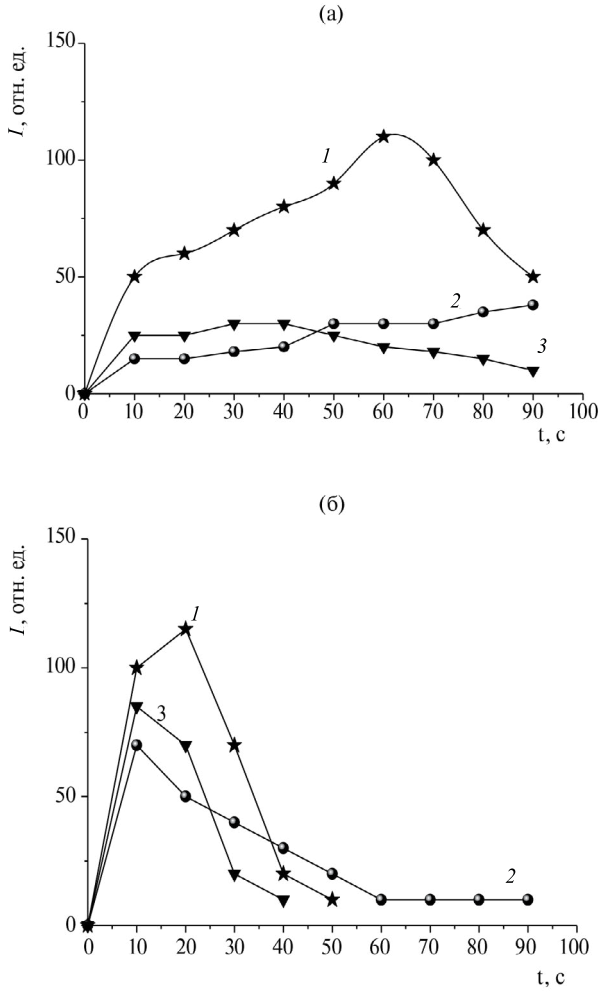


**Рис. 1.** Кривые испарения Mo (а) и Si (б) из оксида алюминия без добавок (*1*) и в присутствии добавок: *2* –30 мас. % графитового порошка, *3*–30 мас. % графитового порошка + 15 мас. % $ZnF_2$.

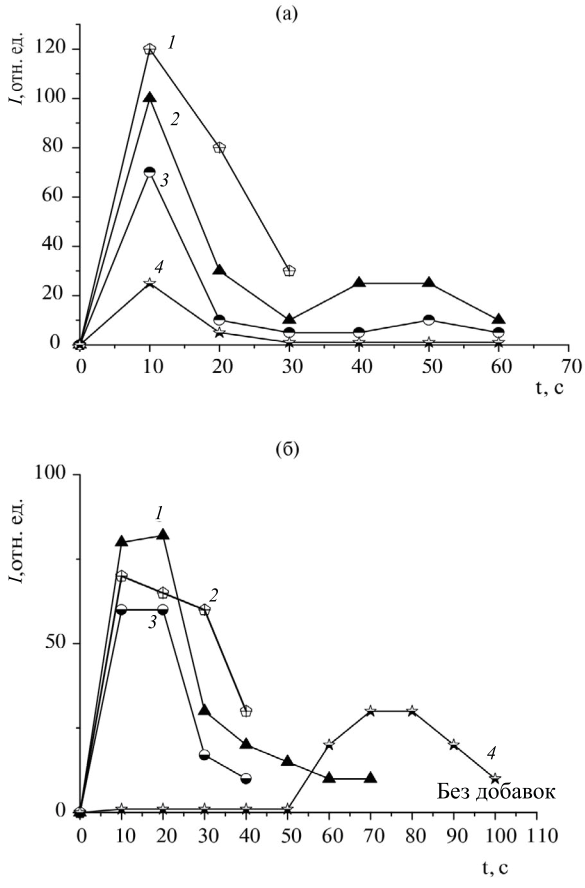


**Рис. 2.** Кривые испарения Ti (а) и Hf (б) из оксида алюминия в присутствии добавок: *1*–15 мас. % $ZnF_2$, *2*–15 мас. % $AlF_3$, *3*–20 мас. % AgF и без добавок (*4*).

в оксиде алюминия нецелесообразно. Более перспективно применение фторирующих добавок в отсутствие графитового порошка.

На рис. 2а, 2б приведены кривые испарения титана и гафния из кратера электрода дуги постоянного тока в присутствии всех исследованных добавок. Аналогичным образом выглядят кривые испарения в присутствии оптимальных количеств добавок и без добавки и для остальных изученных

элементов. Оптимальное количество каждой добавки находили путем изучения зависимости интенсивности спектральных линий определяемых элементов от содержания добавки в оксиде алюминия. Для $AlF_3$ и $ZnF_2$ оно составило 15, а для AgF – 20 мас. %. Из рис. 2 видно, что все изучаемые фторсодержащие добавки способствуют более быстрому испарению труднолетучих элементов из кратера электрода. Если без добавки их основное испарение начинается только после 40 с, то в присутствии добавок оно происходит в течение первых 30 с горения дуги. Все исследуемые добавки способствуют также значительному росту интенсивности спектральных линий определяемых элементов. Максимальный рост интенсивности наблюдается в присутствии фторида цинка. Объяснить это можно, очевидно, следующим образом. Эффективная температура плазмы дуги ($T_{эф}$) при анализе оксида алюминия в атмосфере воздуха ($V_i$ алюминия равен 5.98 эВ) составляет 5 900 °С [25]. Оптимальная температура плазмы ($T_{опт}$) для возбуждения выбранных атомных спектральных линий исследуемых элементов, рассчитанная по предложенной в работе [26] формуле, составляет 5 600–5 800 °С. Известно [27], что введение в плазму дуги, горящую в атмосфере воздуха, элементов с низким $V_i$ (5–6 эВ) вызывает снижение эффективной температуры плазмы дуги. При этом снижение температуры плазмы тем больше, чем ниже $V_i$ вводимого элемента и больше его концентрация в столбе дуги. Введение в дугу элементов с высокими $V_i$ (около 10 эВ) практически не влияет на эффективную температуру столба дуги. Следовательно, введение добавки $ZnF_2$ ($V_i$ цинка 9.393 эВ) в алюминиевую дугу не приводит к изменению ее эффективной температуры и она остается близкой к величинам $T_{опт}$ для возбуждения атомных

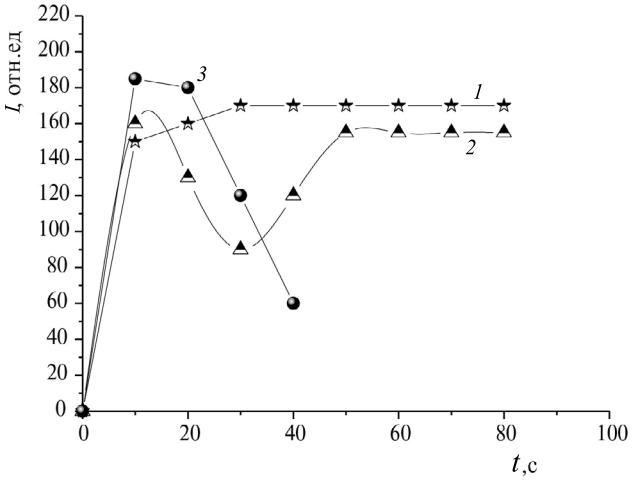


**Рис. 3.** Характер испарения элемента-основы алюминия из кратера электрода дуги без добавки (*1*) и в присутствии $ZnF_2$ (*2*), а также элемента-примеси бора (*3*).

спектральных линий определяемых в оксиде алюминия элементов. Использование добавок $AlF_3$ ($V_i$ алюминия 5.98 эВ) и AgF ($V_i$ серебра 7.57 эВ) может вызывать снижение температуры плазмы дуги. Таким образом, значительное уменьшение времени полного испарения элементов-примесей из кратера электрода дуги и значительный рост интенсивности их спектральных линий в присутствии всех исследуемых добавок обусловлен образованием легколетучих фторидов.

Установили, что использование добавки $ZnF_2$ способствует не только росту интенсивности спектральных линий определяемых труднолетучих элементов и ускорению их испарения из кратера электрода, но и предотвращает образование расплава в кратере электрода в первые 30 с горения дуги, что способствует улучшению сходимости результатов определений. На рис. 3 приведены

**Таблица 2.** Пределы определения ($c_{lim}$) и сходимость результатов определения ($s_r$) труднолетучих элементов в оксиде алюминия в присутствии добавки 15 мас. % $ZnF_2$ и без добавки ($n = 15$, $P = 0.95$)

| Элемент | $c_{lim}$, мас. % | | $s_r$ | |
|---|---|---|---|---|
| | без добавки | с $ZnF_2$ | без добавки | с $ZnF_2$ |
| B | $1\times10^{-3}$ | $3\times10^{-5}$ | 0.19 | 0.13 |
| Be | $7\times10^{-4}$ | $2\times10^{-5}$ | 0.18 | 0.12 |
| Cr | $1\times10^{-3}$ | $3\times10^{-5}$ | 0.18 | 0.12 |
| Hf | $5\times10^{-2}$ | $8\times10^{-4}$ | 0.20 | 0.14 |
| Mo | $1\times10^{-3}$ | $5\times10^{-5}$ | 0.18 | 0.12 |
| Si | $5\times10^{-4}$ | $3\times10^{-5}$ | 0.22 | 0.14 |
| Ti | $5\times10^{-3}$ | $2\times10^{-5}$ | 0.19 | 0.13 |
| V | $7\times10^{-4}$ | $2\times10^{-5}$ | 0.20 | 0.12 |

**Таблица 3.** Проверка правильности определения труднолетучих элементов в оксиде алюминия в присутствии добавки $ZnF_2$ дуговым атомно-эмиссионным методом ($n = 4$, $P = 0.95$)

| Элемент | Введено, мас. % | Найдено, мас. % | $s_r$ |
|---|---|---|---|
| B | $1.0\times10^{-4}$ | $(1.1\pm0.2)\times10^{-4}$ | 0.13 |
| Be | $1.0\times10^{-4}$ | $(0.9\pm0.2)\times10^{-4}$ | 0.12 |
| Cr | $1.0\times10^{-4}$ | $(1.1\pm0.2)\times10^{-4}$ | 0.12 |
| Hf | $1.0\times10^{-3}$ | $(1.1\pm0.3)\times10^{-3}$ | 0.14 |
| Mo | $1.0\times10^{-4}$ | $(1.0\pm0.2)\times10^{-4}$ | 0.12 |
| Si | $1.0\times10^{-4}$ | $(1.2\pm0.3)\times10^{-4}$ | 0.14 |
| Ti | $1.0\times10^{-4}$ | $(0.9\pm0.2)\times10^{-4}$ | 0.13 |
| V | $1.0\times10^{-4}$ | $(1.0\pm0.2)\times10^{-4}$ | 0.12 |

кривые испарения элемента-основы алюминия без добавки и в присутствии добавки $ZnF_2$, а также кривая испарения элемента-примеси бора. Видно, что без добавки интенсивное поступление алюминия в плазму дуги начинается с первых секунд горения дуги (кривая *1*), а в присутствии добавки – лишь после 40-й секунды (кривая *2*), т.е. после испарения образовавшихся фторидов определяемых элементов (кривая *3*). Таким образом, введение фторида цинка способствует фракционному испарению определяемых элементов-примесей по отношению к испарению основы и, следовательно, улучшению сходимости результатов определения и снижению $c_{lim}$ исследуемых труднолетучих элементов. В табл. 2 приведены значения $c_{lim}$ изученных труднолетучих элементов-примесей, а также сходимость результатов их определения в оксиде алюминия в присутствии и в отсутствие добавки $ZnF_2$. Величину $c_{lim}$ оценивали по содержанию, соответствующему нижней точке градуировочного графика, найденному с приемлемой точностью [28]. Из табл. 2 видно, что использование фторида цинка приводит не только к снижению $c_{lim}$ труднолетучих элементов на полтора–два порядка, но и к улучшению сходимости результатов их определения. Правильность результатов определения труднолетучих элементов-примесей в присутствии $ZnF_2$ проверяли методом введено–найдено (табл. 3). Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии значимых различий между введенными и найденными содержаниями для всех определяемых элементов.

* * *

Таким образом, в результате изучения поведения труднолетучих элементов B, Be, Cr, Hf, Mo, Si, Ti и V в присутствии фторсодержащих добавок $AlF_3$, AgF и $ZnF_2$ в дуге постоянного тока при АЭА высокочистых алюминия и его оксида показано, что в присутствии этих добавок происходит существенный рост интенсивности спектральных линий и уменьшение времени полного испарения определяемых элементов из электрода, что свидетельствует об образовании их легколетучих фторидов. При этом наиболее эффективна добавка 15 мас. % $ZnF_2$. Использование $ZnF_2$ способствует фракционному испарению труднолетучих элементов-примесей по отношению к матричному элементу в плазму дуги, что позволяет снизить $c_{lim}$ труднолетучих элементов в оксиде алюминия на полтора–два порядка. Кроме того, введение фторида цинка предотвращает образование в кратере электрода расплава оксида алюминия, что способствует улучшению сходимости результатов определения элементов-примесей.

*Работа выполнена в рамках Госзадания № 075-01304-23-00.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Зверев Г.М.* Лазеры на алюмоиттриевом гранате с неодимом. М.: Радио и связь, 1985. 144 с.
2. *Yagi H., Bisson J.F., Ueda K., Yanagitani T.* Y3Al5O12 ceramic absorbers for the suppression of parasitic oscillation in high-power Nd: YAG lasers // J. Lumin. 2006. V. 21. P. 88.
3. *Евдокимов И.И., Пименов В.Г.* Определение примесей в оптической керамике и ее прекурсорах методами атомной спектрометрии // Вестн. Нижегор. ун-та им. Н.И. Лобачевского. 2013. №4(1). С. 98.
4. *Карабаш А.Г., Пейзулаев Ш.И., Слюсарева Р.Л., Мешкова В.М.* Химико-спектральный метод анализа алюминия высокой чистоты // Журн. аналит. химии. 1959. Т. 14. № 5. С. 598.
5. *Дегтярева О.Ф., Синицына Л.Г., Проскурякова А.Е.* Спектральный анализ алюминия высокой

чистоты // Журн. аналит. химии. 1963. Т. 88. № 4. С. 510.

6. *Морошкина Т.М., Мельников Ю.А.* Повышение чувствительности спектрального определения микропримесей в окиси алюминия // Заводск. лаборатория. 1969. Т. 35. № 6. С. 679.
7. *Ильченко О.П., Золотовицкая Э.С.* Атомно-эмиссионное спектрографическое определение микропримесей в монокристаллических подложках для ВТСП-пленок // Высокочистые вещества. 1992. № 4. С. 132.
8. *Красильщик В.З., Воропаев Е.И.* Использование метода сканируемого электрода при спектральном анализе окиси алюминия // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 1980. Т. 46. № 12. С. 1105.
9. *Золотовицкая Э.С., Штительман З.В., Ильченко И.П., Бланк А.Б.* Атомно-эмиссионный спектральный анализ оксида алюминия с применением дугового аргонового плазматрона // Журн. аналит. химии. 1997. Т. 52. № 11. С. 1213.
10. *Евдокимов И.И., Пименов В.Г.* Атомно-эмиссионный анализ нанопорошков оксида иттрия и алюмоиттриевого граната, легированных неодимом // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2012. Т. 78. № 7. С. 3.
11. *Евдокимов И.И., Пименов В.Г.* Концентрирование примесей экстракцией матрицы для АЭС-ИСП анализа оксида неодима, оксида иттрия и нанопорошка алюмоиттриевого граната, легированных неодимом / Матер. III Всерос. симп. с междунар. участием “Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии”. Краснодар. 2011. С. 111.
12. *Khvostikov V.A., Karandashev V.K., Burmii Zh.P.* Analysis of α-alumina samples by mass spectrometry with inductively coupled plasma and laser ablation // Inorg. Mater. 2015. V. 51. № . 14. P. 1418.
13. *Никитина О.Н., Зильберштейн Х.И.* К вопросу о повышении чувствительности прямого спектрального определения примесей в чистой окиси алюминия // Труды по химии и химической технологии. 1969. № 3. С. 79.
14. *Русанов А.К.* Основы количественного анализа руд и минералов. М.: Недра, 1978. 400 с.
15. *Фришберг А.А.* Повышение чувствительности определения при помощи химически активных носителей // Журн. прикл. спектроскопии.1965. Т. 3. № 2. С. 187.
16. *Карякин А.В., Штепа Е.В.* Влияние катиона добавки на интенсивность спектральных линий микроэлементов в атомно-эмиссионном спектральном анализе // Журн. прикл. спектроскопии. 1991. Т. 54. № 1. С. 18. (*Karyakin A.V., Shtepa L.P* Influence of carrier cations on the intensity of spectral lines of microelements in atomic-emission spectral analysis // J. Appl. Spectrosc. 1991. V. 54. № 1. P. 10.)
17. *Швангирадзе Р.Р., Высокова И.Л., Мозговая Т.А., Петрова О.А.* Спектральное определение микропримесей в порошковых материалах // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 1972. Т. 38. № 4. С. 384.
18. *Карякин А.В., Павленко Л.И., Бабичева Г.Г.* Спектральное определение микропримесей в хлориде алюминия // Журн. аналит. химии. 1971. Т. 26. № 7. С. 1344.
19. *Лейкин С.В., Орлова В.А.* Определение титана, циркония, молибдена и ванадия в высокочистом оксиде алюминия α-модификации // Высокочистые вещества. 1990. № 3. С. 189.
20. *Домбровская М.А., Лисиенко Д.Г., Гильмуллина Ч.Г., Кубрина Е.Д.* Совершенствование атомно-эмиссионной методики анализа графитового коллектора // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2017. Т. 83. № 1. Ч. II. С. 51.
21. *Золотарева Н.И., Гражулене С.С.* Использование химически активных добавок для повышения чувствительности определения редкоземельных элементов и тория дуговым атомно-эмиссионным методом. // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2011. Т. 77. № 9. С. 11.
22. *Золотарева Н.И., Гражулене С.С.* Использование химически активных добавок для определения бора в графите дуговым атомно-эмиссионным методом анализа // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 2. С. 124. (*Zolotareva N.I., Grazhulene S.S.* Using chemically active additives for the arc atomic emission determination of boron in graphite // J. Anal. Chem. 2021. V. 76. № . 2. P. 183.)
23. *Верятин У.Д., Маширев В.П.* Термодинамические свойства неорганичесих веществ. М.: Атомиздат, 1965. С. 54.
24. *Бурмий Ж.П., Золотарева Н.И., Хвостиков В.А., Гражулене С.С.* Фотоэлектрическая регистрация эмиссионных спектров на основе приборов с зарядовой связью // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2008. Т. 74. № 6. С. 26.
25. *Зильберштейн Х.И.* Спектральный анализ чистых веществ. Л.: Химия, 1971. С. 105.
26. *Гольдфарб В.М., Ильина Е.В.* О зависимости интенсивности спектральных линий от состава плазмы дуги постоянного тока / Прикладная спектроскопия. М.: Наука, 1969. Т. 1. С. 172.
27. *Зайдель А.Н., Калитеевский Н.И., Липис Л.В., Чайка М.П.* Эмиссионный спектральный анализ атомных материалов. М.: Физматгиз, 1960. 686 с.
28. *Экспериандова Л.П., Беликов К.Н., Химченко С.В., Бланк Т.А.* Еще раз о пределах обнаружения и определения // Журн. аналит. химии. 2010. Т. 65. № 3. С. 229. (*Eksperiandova L.P., Belikov K.N., Khimchenko S.V., Blank T.A.* Once again about determination and detection limits // J. Anal. Chem. 2010. V. 65. № 3. P. 223.)

*ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ, 2024, том 79, № 3, с. 244–262*

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

*УДК 543.544.5.068.7:543.51:619:615.2*

# СКРИНИНГ ПРОБ И ОЦЕНКА ОСТАТОЧНЫХ СОДЕРЖАНИЙ 214 ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ МЕТОДОМ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

**© 2024 г. В. Г. Амелин[a,*], О. И. Лаврухина[a], А. В. Третьяков[a], И. В. Батов[a], Л. К. Киш[a]**

[a] *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 17.04.2023 г.
После доработки 19.05.2023 г.
Принята к публикации 22.05.2023 г.

Сочетание скрининга проб и последующего подтверждающего определения загрязнителей является оптимальной стратегией рутинных исследований при реализации программ мониторинга безопасности пищевой продукции. Ультравысокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией высокого разрешения предложена для многокомпонентного определения остаточных содержаний широкого спектра лекарственных препаратов для ветеринарного применения и их метаболитов с минимальной пробоподготовкой. Для нивелирования матричного эффекта использовали метод изотопного разбавления. Предлагаемая вданной работе методика позволяет одновременно идентифицировать и оценить остаточные содержания 214 лекарственных препаратов для ветеринарного применения на уровне их предела обнаружения 0.1–10.0 нг/г, существенно сократить продолжительность (40–50 мин) и стоимость анализа.

**Ключевые слова:** ультравысокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия высокого разрешения, идентификация и определение по точным массам ионов, изотопное разбавление, пищевые продукты.

**DOI:** 10.31857/S0044450224030057, **EDN:** vqmefh

Методикиодновременного определения остаточных содержаний лекарственных средств для ветеринарного применения и их метаболитов необходимы при проведении мониторинга безопасности продовольственного сырья и продуктов питания [1, 2]. Учитывая большой объём рутинных исследований, подход, включающий скрининг проб на максимально широкий спектр загрязнителей и последующий подтверждающий анализ в случае обнаружения, является наиболее оптимальным. Он позволяет снизить затраты, но сохранить необходимую выборку для обеспечения репрезентативности результатов при контроле пищевой безопасности. Задача одновременного определения большого числа загрязнителей разных классов в настоящее время решается хроматографическими методами с масс-спектрометрическим детектированием [3]. Принимая во внимание различия в физико-химических свойствах действующих веществ ветеринарных препаратов, необходимо использовать общие условия экстракции, хроматографического разделения и обнаружения. При многокомпонентном анализе методами высокоэффективной и ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (**УВЭЖХ**- и **ВЭЖХ–МС/МС**) при пробоподготовке наиболее распространены подходы QuEChERS и твердофазно-, жидкостно-жидкостная экстракция в сочетании с последующей очисткой методом твердофазной экстракции [4] (табл. 1).

Методики, сочетающие не только УВЭЖХ, но и ВЭЖХ с тандемной масс-спектрометрией и масс-спектрометрией высокого разрешения (**МС-ВР**), позволяют одновременно идентифицировать множество соединений разных классов и могут быть использованы для скрининга большого числа проб. При этом для УВЭЖХ характерно

**Таблица 1.** Характеристики методик одновременного определения ветеринарных препаратов

| Число определяемых аналитов | Матрица; пробоподготовка; степень извлечения, % | Метод; колонка; продолжительность хроматографирования | Предел обнаружения/ определения, мкг/кг | Литература |
|---|---|---|---|---|
| 11 | Яйца; ЖЖЭ + магнитная ДТФЭ; 75–104 | УВЭЖХ–МС-ВР (Orbitrap); Hypersil GOLD aQ C18 (150 г) | 0.12–1 532.0/– | [5] |
| 13 | Молоко; QuEChERS; 62–125 | ВЭЖХ–МС/МС; XTerra C18 (50×3 мм, 3.5 мкм); 20 мин | 0.3–16.6/ 1.0–50.0 | [6] |
| 18 | Молоко, курица, свинина, говядина; QuEChERS; 73.9–135 | ВЭЖХ–МС/МС; Acclaim Polar Advantage II C18 (150×2.1 мм, 3 мкм); 26 мин | 0.1–0.21/ 0.03–0.66 | [7] |
| 23 | Рыба и мясо; ТЖЭ*; 82–119 | ВЭЖХ–МС/МС; Phenomenex Aqua C18 (150×2.1 мм, 3 мкм); 18 мин | 0.3–15.0/ 0.8–45.3 | [8] |
| 25 | Молоко; QuEChERS; 63–126 | ВЭЖХ–МС/МС; Zorbax Eclipse Plus C18 (50 г) | 0.02–0.4 ($CC_\beta$) /– | [9] |
| 26 | Молоко; QuEChERS; 75–120 | ВЭЖХ–МС/МС; Symmetry C18 (150×2.1 мм, 5 мкм); 10 мин | –/8.0–12.0 | [10] |
| 60 | Тилапия; ТЖЭ + ДТФЭ-очистка; 81–111 | УВЭЖХ–МС-ВР (Orbitrap); Hypersil Gold aQ C18 (100 г) | 0.01–4.73 ($CC_\beta$)/– | [1] |
| 60 | Козье молоко; ЖЖЭ + ТФЭ-очистка; 60.1–110.0 | УВЭЖХ–МС-ВР (Orbitrap); Hypersil Gold aQ C18 (100×2.1 мм, 1.9 мкм); 12 мин | 0.5–1.0/ 5.0–10.0 | [11] |
| 63 | Курица; ТЖЭ + ТФЭ-очистка; 83–117 | ВЭЖХ–МС/МС; Acclaim 120 C18 (100×2.1 мм, 3 мкм); 12 мин | 0.01–0.3/ 0.02–1.0 | [12] |
| 66 | Молоко; ЖЖЭ + ТФЭ-очистка; 70–120 | УВЭЖХ–МС/МС; Zorbax RRHD Eclipse Plus C18 (50×2.1 мм, 1.8 мкм); 10.5 мин | –/0.02–18.5 | [13] |
| 75 | Детское питание; ТЖЭ + ЖЖЭ-очистка, фильтрация; 79.8–110.7 | УВЭЖХ–МС-ВР (Orbitrap); Accucore aQ C18 (100×2.1 мм, 2.6 мкм); 9.5 мин | 0.01–5.35/ 0.01–9.27 | [14] |
| 78 | Яйца; ЖЖЭ + ДТФЭ-очистка; 70.5–119.2 | УВЭЖХ–МС/МС; Acquity UPLC BEH C18 (100×2.1 мм, 1.7 мкм); 9.5 мин | 0.03–0.33/ 0.1–1.0 | [15] |
| >100 | Мышечная ткань КРС; ТЖЭ + ДТФЭ-очистка; 70–120 | УВЭЖХ–МС/МС; Acquity RP HSS T3 (100×2.1 мм, 1.8 мкм); 9.5 мин | – | [16] |
| 105 | Молоко, мясо, рыба, яйца, жир; QuEChERS; 70–120 | УВЭЖХ–МС/МС; Acquity BEH VanGuard (2.1×5 мм, 1.7 мкм) + Acquity BEH C18 LC (100×2.1 мм, 1.7 мкм); 16 мин | 0.3–15.0/– | [17] |
| 112 | Мясо; ТЖЭ + ДТФЭ-очистка; 95.6–101.0 | ВЭЖХ–МС/МС; XSelect HHS T3, (150×3 мм, 2.5 мкм); 25 мин | 0.2–13.6/ 0.9–48.0 | [18] |
| 117 | Детское питание; QuEChERS, – | УВЭЖХ–МС-ВП; RRHD Eclipse-Plus C18 (50 г) | –/<10 | [19] |
| 132 | Молоко; ЖЖЭ + магнитная ДТФЭ; 72–120 | ВЭЖХ–МС/МС; Acclaim 120 C18 (100×2.1 мм, 3 мкм); 25 мин | 0.015–0.3/0.05–1 | [20] |
| 140 | Курица; ТЖЭ + ЖЖЭ + ДТФЭ-очистка; 70–120 | УВЭЖХ–МС/МС; Acquity HSS T3 (100×2.1 мм, 1.8 мкм); 12 мин | ⩽1.0/0.05–10.0 | [21] |

**Таблица 1.** Окончание

| Число определяемых аналитов | Матрица; пробоподготовка; степень извлечения, % | Метод; колонка; продолжительность хроматографирования | Предел обнаружения/ определения, мкг/кг | Литература |
|---|---|---|---|---|
| 141 | Свинина; ТЖЭ, ТФЭ-очистка; >70 | ВЭЖХ–МС-ВП; Poroshell 120 EC–C18 (150×2.1 мм, 2.7 мкм); 27 мин | 0.1–5.0/ 0.1–10.0 | [22] |
| 155 | Свинина, говядина, баранина, курица, свиная и куриная печень; ТЖЭ + ТФЭ-очистка; 79.2–118.5 | УВЭЖХ–МС-ВР (Orbitrap); Eclipse plus C18 (150×3.0 мм, 1.8 мкм); 28 мин | 0.1–10.0/– | [23] |
| 155 | Свинина, говядина, баранина; ТЖЭ + ТФЭ-очистка; 60–120 | УВЭЖХ–МС/МС; Eclipse Plus C18 (150×3.0 мм, 1.8 мкм); 22 мин | 0.5–5.0/ 2.0–20.0 | [24] |
| 164 | Свинина, говядина, курица; ТЖЭ + вымораживание; 70.0–120.0 | ВЭЖХ–МС-ВР (Orbitrap); Phenomenex Luna Omega (100×2.1 мм, 1.6 мкм); 20 мин | >0.18 ($CC_\beta$)/– | [25] |
| 169 | Яйца; ЖЖЭ; 70.0–120.0 | УВЭЖХ–МС/МС; Acquity HSS T3 (100×2.1 мм, 1.8 мкм); 10.5 мин | – | [26] |
| 182 | Продукция аквакультуры; ТЖЭ (2 этапа) + ДТФЭ-очистка; 70.0–120.0 для большинства соединений | ВЭЖХ–МС-ВП; ACQUITY BEH C18 (100×2.1 мм, 1.7 мкм); 23 мин | –/⩽10.0 | [27] |
| >200 | Карп, угорь, креветки, краб, мидии; ТЖЭ (2 этапа); 70–120 для большинства соединений | УВЭЖХ–МС-ВР (Orbitrap); Accucore RP-MS C18 (100×2.1 мм, 2.6 мкм); 25 мин | –/1.0–50.0 (скрининговый предел) | [28] |
| 291 | Протеиновый порошок; ДТФЭ; 65.6–142.2 | УВЭЖХ–МС/МС; Acquity HSS-T3 (100×2.1 мм, 1.8 мкм); 16 мин | –/0.1–50.0 | [29] |

*Обозначения:* ТЖЭ, ЖЖЭ – твердофазно-жидкостная и жидкостно-жидкостная экстракция; ДТФЭ – дисперсионная твердофазная экстракция; $CC_\beta$ – возможность обнаружения.

бóльшее разрешение хроматографических пиков, благодаря высокой скорости потока они существенно у́же (как правило, 1–3 с), соответственно появляется возможность сократить время хроматографирования и в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения, времяпролётной (**МС-ВП**) или Orbitrap увеличить число одновременно идентифицируемых соединений [3] (табл. 1). В случае МС-ВР идентификацию и определение проводят по точным массам ионов-прекурсоров, как правило, без фрагментации (в режиме МС/МС – по ионам-продуктам). Стандартное разрешение МС-ВР как минимум в 20 раз выше, чем масс-спектрометрии с низким разрешением [30] (при использовании времяпролётного детектора до 15 000 FWHM [31–34], квадруполь-времяпролётного до 50 000 FWHM [35, 36], орбитальной ловушки до 100 000 FWHM [37, 38]). Метод очень избирателен и благодаря измерению точных масс соединений даёт возможность различать даже незначительные изменения в их структуре [39]. Масс-спектрометрия высокого разрешения позволяет разделять пики соединений с близкими соотношениями $m/z$ и определять их на уровне 2–5 млн$^{-1}$, что крайне важно для многокомпонентного анализа сложных матриц, в том числе образцов продовольственного сырья и пищевых продуктов.

Высокоэффективная жидкостная хроматография с МС-ВР-детектированием (Orbitrap) позволяет одновременно идентифицировать и определять остаточные содержания более 200 действующих веществ препаратов для ветеринарного применения и их метаболитов, принадлежащих к разным классам: антибиотики, противовоспалительные препараты, антигельминтики, кортикостероиды,

гормоны, тиреостатики, транквилизаторы, амфетамины, а также β-агонисты в яйцах, рыбе и другой продукции аквакультуры, детском питании, мясе и субпродуктах (табл. 1). Разработаны скрининговые УВЭЖХ–МС-ВП-методики определения 630 загрязнителей, включая 117 лекарственных препаратов разных групп в мясорастительном пюре для детей [19], 141 – в свинине [22], 182 – в продукции аквакультуры [27].

Компоненты матрицы оказывают влияние на извлечение аналитов, селективность и чувствительность их определения даже в случае использования МС-ВР-детектирования. Снижения матричного эффекта можно добиться дополнительной очисткой экстрактов, но это существенно усложняет процедуру анализа на стадии пробоподготовки. Для повышения надежности идентификации и точности определения используют изотопно меченные внутренние стандарты [22] и метод изотопного разбавления [40].

Ранее нами опубликована работа [41], в которой содержание β-лактамных антибиотиков в пищевых продуктах определяли методом добавок: сначала проводили скрининг проб по точным массам ионов, затем в случае обнаружения соединения из данного класса анализ повторяли с добавкой стандартного раствора найденного антибиотика.

Цель данной работы заключалась в разработке универсальной УВЭЖХ–МС-ВП-методики скрининга и оценки остаточных содержаний широкого спектра лекарственных препаратов ветеринарного назначения в пищевых продуктах с упрощенной пробоподготовкой и использованием метода изотопного разбавления для нивелирования матричного эффекта.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Аппаратура**. Использовали ультравысокоэффективный жидкостной хроматограф UltiMate 3000 (Thermo Scientific, США) в сочетании с квадруполь-времяпролетным масс-спектрометрическим детектором maXis Impact, maXis 4G и электрораспылительным устройством ionBooster (Bruker Daltonics, Германия). Разделение проводили в режиме градиентного элюирования на колонке 30×2.1 мм, 1.7 мкм ACQUITY UPLC® BEN C18 (Waters, США)

**Реактивы.** Использовали ацетонитрил (Schar-lab S.L., Испания) 99.9%; изопропиловый спирт (Scharlab S.L., Испания) для ВЭЖХ; метанол (Panreac, ЕС) PA-ACS-ISO; этилендиаминтетраацетат натрия (**ЭДТА**) (ХИММЕД, Россия) 99.0%; хлорид натрия (ХИММЕД, Россия) х. ч.

Использовали стандартные образцы (Dr. Ehrenstorfer, Fluka, Sigma-Aldrich и др., табл. 2) сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов и цефалоспоринов, амфениколов, кокцидиостатиков, нестероидных противовоспалительных средств, антигельминтиков, хинолонов, макролидов, линкозамидов, седативных средств, плевромутилинов, хиноксалинов, полипептидов, красителей, β-агонистов, а также изотопно меченные стандарты, соответствующие этим классам веществ. Содержание основного вещества во всех использованных стандартах составляло 87.0–99.1%.

Исходные растворы с концентрацией 1 мг/мл готовили растворением соответствующей навески (с учетом содержания основного вещества) в метаноле или в ацетонитриле. Хранили растворы при –20 °С не более шести месяцев. Рабочие растворы готовили разбавлением исходных водой в день использования.

**Пробоподготовка.** В центрифужную пробирку емк. 15 мл вносили 1.00 г тщательно измельченной пробы (1.00 г мёда растворяли в 1 мл воды), добавляли 2.0 мл ацетонитрила, 0.5 г NaCl, 40.0 мг ЭДТА, перемешивали в течение 5 мин и центрифугировали в течение 5 мин при 2 700 об/мин. Отбирали верхний ацетонитрильный слой во флакон и упаривали досуха при 40 °С в токе азота с использованием устройства RapidVap LABCONCO, США, к сухому остатку добавляли 50 мкл метанола и 950 мкл деионизованной воды, перемешивали 5 мин и фильтровали через мембранный фильтр 0.20 мкм (GHP ACRODISC13, PALL, США) в микрофлакон для хроматографирования.

**Оценка матричного эффекта (МЭ)**. Для оценки МЭ использовали соотношение площадей хроматографических пиков, полученных в условиях анализа экстракта из матрицы, не содержащей исследуемых соединений, и деионизованной воды. Матричный эффект рассчитывали по формуле:

$$\text{МЭ}\ (\%) = (S_x/S_0 - 1) \times 100,$$

где $S_x$, $S_0$ – площади хроматографических пиков экстрактов из матрицы и деионизованной воды соответственно.

**Условия хроматографического разделения и детектирования.** Подвижная фаза состояла из 0.1%-ной муравьиной кислоты в воде (А) и 0.1%-ной муравьиной кислоты в ацетонитриле (Б).

**Таблица 2.** Основные характеристики 214 ветеринарных препаратов, определяемых методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии высокого разрешения в пищевых продуктах

| Аналит | Производитель, CAS-номер | Брутто-формула | Ион | $t_R$, мин | $m/z$ | $c_{мин}$, мкг/кг | $k$, вода/матрица | МЭ, % мин/макс |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Линкозамиды (2) | | | | | | | | |
| Клиндамицин | Sigma-Aldrich, 58207-19-5 | $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$ | $[M+H]^+$ | 3.8 | 425.1871 | 0.5 | 0.9/0.8 | –21/–66 |
| Линкомицин | TRC, 859-18-7 | $C_{18}H_{34}N_2O_6S$ | $[M+H]^+$ | 2.5 | 407.2210 | 0.5 | 0.4/0.5 | –39/–67 |
| Клинда-мицин-$D_3$ | TRC, 1356933-72-6 | $C_{18}H_{30}D_3ClN_2O_5S$ | $[M+H]^+$ | 3.8 | 428.2060 | 0.5 | | –20/–66 |
| Макролиды (12) | | | | | | | | |
| Азитромицин | TRC, 83905-01-5 | $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ | $[M+H]^+$ | 3.7 | 749.5158 | 0.5 | 1.3/1.5 | –20/–30 |
| Джозамицин | Santa Cruz Biotechnology, 16846-24-5 | $C_{42}H_{69}NO_{15}$ | $[M+H]^+$ | 4.4 | 828.4818 | 0.5 | 0.4/0.5 | –12/–21 |
| Кларитромицин | Sigma-Alrdich, 81103-11-9 | $C_{38}H_{69}NO_{13}$ | $[M+H]^+$ | 4.3 | 748.4842 | 0.5 | 0.3/0.2 | +30/–61 |
| Рокситромицин | Sigma-Aldrich, 80214-83-1 | $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$ | $[M+H]^+$ | 4.3 | 837.5318 | 0.5 | 1.2/1.3 | +15/–45 |
| Спирамицин | Santa Cruz Biotechnology, 24916-50-5 | $C_{43}H_{74}N_2O_{14}$ | $[M+2H]^{2+}$ | 3.7 | 422.2607 | 0.5 | 0.4/0.4 | –15/–83 |
| Тилмикозин | Dr.Ehrenstorfer, 108050-54-0 | $C_{46}H_{80}O_{13}N_2$ | $[M+H]^+$ | 3.9 | 869.5738 | 0.5 | 1.4/1.3 | –20/+36 |
| Тилозин | Sigma-Aldrich, 001405-54-5 | $C_{46}H_{77}O_{17}N$ | $[M+H]^+$ | 4.1 | 916.5270 | 0.5 | 0.7/0.9 | +2/–50 |
| Тилвалозин | TRC, 63409-12-1 | $C_{53}H_{87}O_{19}N$ | $[M+H]^+$ | 4.4 | 1042.5945 | 0.5 | 0.6/0.6 | +38/–66 |
| Тулатромицин | TRC, 217500-96-4 | $C_{41}H_{79}O_{12}N_3$ | $[M+2H]^{2+}$ | 4.3 | 403.7905 | 0.5 | 0.8/08 | –10/–29 |
| Эритромицин | Fluka, 114-07-8 | $C_{37}H_{67}O_{13}N$ | $[M+H]^+$ | 4.1 | 734.4690 | 0.5 | 0.6/06 | –4/–60 |
| Китасамицин | LGC, 1392-21-8 | $C_{40}H_{67}NO_{14}$ | $[M+H]^+$ | 4.3 | 786.4634 | 0.5 | 1.9/1.8 | –15/–67 |
| Тилдипирозин | TRC, 328898-40-4 | $C_{41}H_{71}N_3O_8$ | $[M+H]^+$ | 3.3 | 734.5313 | 1.0 | 2.3/2.5 | –6/–68 |
| Азитромицин-$D_3$ | TRC, 163921-65-1 | $C_{38}H_{69}N_2O_{12}D_3$ | $[M+H]^+$ | 3.7 | 752.5346 | 0.5 | | –19/–35 |
| Амфениколы (4) | | | | | | | | |
| Тиамфеникол | Sigma-Aldrich, 15318-45-3 | $C_{12}H_{15}Cl_2NO_5S$ | $[M–H]^–$<br>$[M+Cl]^–$ | 2.2 | 353.9964<br>389.9731 | 1.0 | 2.4/2.5 | –11/–79 |
| Флорфеникол | TRC, 73231-34-2 | $C_{12}H_{14}NO_4Cl_2SF$ | $[M-H]^–$<br>$[M+Cl]^–$ | 3.7 | 355.9921<br>393.9659 | 1.0 | 1.0/1.2 | –44/–80 |
| Хлорамфеникол | Dr.Ehrenstorfer, 56-75-7 | $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ | $[M-H]^–$<br>$[M+Cl]^–$ | 4.0 | 321.0051<br>356.9805 | 0.2 | 0.7/0.8 | –15/–67 |
| Хлорамфеникола сукцинат | Sigma-Aldrich, 982-57-0 | $C_{15}H_{15}Cl_2N_2O_8Na$ | $[M–Na]^–$ | 4.3<br>4.4 | 421.0200 | 1.0 | 0.6/0.5 | –16/–68 |
| Хлорам-феникол-$D_5$ | Witega, NA | $C_{11}H_7D_5Cl_2N_2O_5$ | $[M–H]^–$<br>$[M+Cl]^–$ | 4.0 | 326.0353<br>362.0120 | 0.2 | | –15/–65 |
| Метаболиты нитрофуранов (4) (после гидролиза пробы и дериватизации) | | | | | | | | |
| АМОЗ | Witega, 43056-63-9 | $C_{15}H_{18}N_4O_5$ | $[M+H]^+$ | 2.2 | 335.1350 | 0.5 | 0.1/0.1 | –10/–29 |

**Таблица 2.** Продолжение

| Анатлит | Производитель, CAS номер | Брутто-формула | Ион | $t_R$, мин | $m/z$ | $c_{мин}$, мкг/кг | $k$, вода/матрица | МЭ, % мин/макс |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| АОЗ | Witega, 8065-9 | $C_{10}H_9N_3O_4$ | $[M+H]^+$ | 3.7 | 236.0665 | 0.5 | 1.3/1.2 | –4/–16 |
| СЕМ | Sigma-Aldrich, 563-41-7 | $C_8H_8N_4O_3$ | $[M+H]^+$ | 3.5 | 209.0669 | 1.0 | 0.8/0.9 | –5/–67 |
| АГД | Witega, 6301-02-6 | $C_{10}H_8N_4O_4$ | $[M+H]^+$ | 2.8 | 249.0618 | 1.0 | 2.2/2.4 | –6/–68 |
| АОЗ-$D_4$ | Witega, 1188331-23-8 | $C_{10}H_5D_4N_3O_4$ | $[M+H]^+$ | 3.7 | 240.0917 | 0.5 | | –4/–19 |
| Пенициллины (11) | | | | | | | | |
| Пенициллин G | Sigma-Aldrich, 113-98-4 | $C_{16}H_{18}N_2O_4S$ | $[M+CH_3OH+H]^+$<br>$[M+H]^+$<br>$[M-H]^-$ | 4.0<br>3.1<br>4.6 | 367.1322<br>335.1060<br>333.0903 | 5.0 | 0.3/0.3 | –20/–38 |
| Пенициллин V | Sigma-Aldrich, 132-98-9 | $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ | $[M+CH_3OH+H]^+$<br>$[M+H]^+$<br>$[M-H]^-$ | 4.2<br>4.2<br>4.8 | 383.1271<br>351.1009<br>349.0853 | 10 | 0.7/0.7 | –21/–42 |
| Ампициллин | Sigma-Aldrich, 7177-48-2 | $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ | $[M+CH_3OH+H]^+$<br>$[M+H]^+$<br>$[M-H]^-$ | 3.5<br>2.9<br>2.9 | 382.1431<br>350.1169<br>348.1013 | 1.0 | 1.5/1.7 | –10/–30 |
| Оксациллин | Sigma-Aldrich, 7240-38-2 | $C_{19}H_{19}N_3O_5S$ | $[M+CH_3OH+H]^+$<br>$[M+H]^+$<br>$[M-H]^-$ | 4.4<br>4.4<br>4.9 | 434.1380<br>402.1118<br>400.0961 | 10 | 0.5/0.6 | –22/–39 |
| Амоксициллин | Sigma-Aldrich, 61336-70-7 | $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ | $[M+CH_3OH+H]^+$ | 2.9 | 398.1380 | 5.0 | 3.8/3.5 | –35/–68 |
| Диклоксациллин | Dr.Ehrenstorfer, 13412-64-1 | $C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_5S$ | $[M+CH_3OH+H]^+$<br>$[M+H]^+$<br>$[M-H]^-$ | 4.6<br>4.4<br>5.3 | 502.0601<br>470.0339<br>468.0182 | 5.0 | 0.9/0.9 | –12/–56 |
| Клоксациллин | Sigma-Aldrich, 642-78-4 | $C_{19}H_{18}Cl\,N_3O_5S$ | $[M+CH_3OH+H]^+$<br>$[M+H]^+$<br>$[M-H]^-$ | 4.5<br>4.5<br>5.1 | 468.0990<br>436.0728<br>434.0572 | 10 | 0.1/0.1 | –31/–56 |
| Нафциллин | USP, 985-16-0 | $C_{21}H_{22}N_2O_5S$ | $[M+CH_3OH+H]^+$<br>$[M+H]^+$<br>$[M-H]^-$ | 4.5<br>3.2<br>5.2 | 447.1584<br>415.1322<br>413.1166 | 1.0 | 0.4/0.4 | –32/–46 |
| Карбенициллин | EPRS, 4800-94-6 | $C_{17}H_{18}N_2O_6S$ | $[M+CH_3OH+H]^+$<br>$[M+H]^+$ | 3.9<br>3.8 | 411.1220<br>379.0958 | 10 | 0.5/0.6 | –21/–46 |
| Пиперациллин | EDQM, 59703-84-3 | $C_{23}H_{27}N_5O_7S$ | $[M+CH_3OH+H]^+$<br>$[M+H]^+$ | 4.0<br>4.0 | 550.1966<br>518.1707 | 10 | 0.5/0.7 | –15/–63 |
| Тикарциллин | Sigma-Aldrich, 4697-14-7 | $C_{15}H_{16}N_2O_6S_2$ | $[M+CH_3OH+H]^+$<br>$[M+H]^+$ | 3.8<br>3.7 | 417.0784<br>385.0523 | 10 | 0.5/0.5 | –30/–39 |
| Пенициллин G-$D_7$ | Sigma-Aldrich, 11217445-37-8 | $C_{16}H_{11}D_7N_2O_4S$ | $[M+CH_3OH+H]^+$<br>$[M+H]^+$<br>$[M-H]^-$ | 4.0<br>3.1<br>4.6 | 374.1761<br>342.1499<br>340.1343 | 5.0 | | –20/–30 |
| Нитроимидазолы (10) | | | | | | | | |
| Диметридазол | Sigma-Aldrich, 551-92-8 | $C_5H_7N_3O_2$ | $[M+H]^+$ | 0.8 | 142.0611 | 0.5 | 1.3/1.0 | +2/+60 |
| Ипронидазол | LGC, 14885-29-1 | $C_7H_{11}N_3O_2$ | $[M+H]^+$ | 3.3 | 170.0924 | 1.0 | 1.3/1.1 | +5/+30 |
| Метронидазол | Sigma-Aldrich, 443-48-1 | $C_6H_9N_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 0.7 | 172.0717 | 0.5 | 0.5/0.4 | –38/–78 |

**Таблица 2.** Продолжение

| Анатлит | Производитель, CAS номер | Брутто-формула | Ион | $t_R$, мин | *m/z* | $c_{мин}$, мкг/кг | *k*, вода/матрица | МЭ, % мин/макс |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Гидроксиипронидазол | Sigma-Aldrich, 1156508-86-9 | $C_7H_{11}N_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 2.4 | 186.0873 | 1.0 | 0.9/1.0 | +1/+26 |
| Ронидазол | Sigma-Aldrich, 7681-76-7 | $C_6H_8N_4O_4$ | $[M+H]^+$ | 0.8 | 201.0618 | 1.0 | 3.5/3.2 | +4/+60 |
| Тернидазол | Sigma-Aldrich, 70028-95-4 | $C_8H_{11}N_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 1.0 | 186.0873 | 0.5 | 0.7/0.6 | +6/+35 |
| Тинидазол | Sigma-Aldrich, 19387-91-8 | $C_8H_{13}N_3O_4S$ | $[M+H]^+$ | 1.5 | 248.0699 | 0.5 | 0.6/0.6 | +8/+45 |
| Гидроксиметилметилнитроимидазол | Sigma-Aldrich, 936-05-0 | $C_5H_7N_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 0.7 | 158.0560 | 1.0 | 2.9/2.7 | –3/–24 |
| Секнидазол | Sigma-Aldrich, 3366-95-8 | $C_8H_{11}O_3N_3$ | $[M+H]^+$ | 1.5 | 186.0873 | 0.5 | 0.6/0.5 | –3/–64 |
| Метронидазол-ОН | Witega, 4812-40-2 | $C_6H_9N_3O_4$ | $[M+H]^+$ | 0.6 | 188.0666 | 1.0 | 0.8/0.7 | –14/–48 |
| Ипронидазол-$D_3$ | Witega, 1015855-83-0 | $C_7H_8D_3N_3O_2$ | $[M+H]^+$ | 3.3 | 173.1112 | 1.0 | | +5/+32 |
| Сульфаниламиды и диаминопиримидины (22) | | | | | | | | |
| Сульфапиридин | Sigma-Aldrich, 144-83-2 | $C_{11}H_{11}N_3O_2S$ | $[M+H]^+$ | 1.4 | 250.0644 | 0.5 | 0.6/0.5 | –2/–55 |
| Сульфадиазин | Fluka, 68-35-9 | $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ | $[M+H]^+$ | 1.3 | 251.0597 | 1.0 | 1.6/1.4 | +5/–67 |
| Сульфатиазол | Sigma-Aldrich, 72-14-0 | $C_9H_9N_3O_2S_2$ | $[M+H]^+$ | 1.2 | 256.0208 | 0.5 | 1.8/1.5 | +4/–65 |
| Сульфамеразин | Sigma-Aldrich, 127-79-7 | $C_{11}H_{12}N_4O_2S$ | $[M+H]^+$ | 1.6 | 265.0753 | 0.5 | 0.7/0.6 | –4/–62 |
| Сульфаметазин | Sigma-Aldrich, 57-68-1 | $C_{12}H_{14}N_4O_2S$ | $[M+H]^+$ | 2.7 | 279.0910 | 0.5 | 0.5/0.4 | –15/–67 |
| Сульфахлорпиридазин | USP, 80-32-0 | $C_{10}H_9ClN_4O_2S$ | $[M+H]^+$ | 3.2 | 285.0207 | 1.0 | 3.2/3.0 | –6/–70 |
| Сульфахиноксалин | Sigma-Aldrich, 59-40-5 | $C_{14}H_{12}N_4O_2S$ | $[M+H]^+$ | 3.9 | 301.0753 | 1.0 | 3.0/3.0 | –7/–65 |
| Сульфаэтоксипиридазин | Sigma-Aldrich, 963-14-4 | $C_{12}H_{14}N_4O_3S$ | $[M+H]^+$ | 3.7 | 295.0859 | 0.5 | 1.0/0.9 | –4/–68 |
| Сульфагуанидин | Sigma-Aldrich, 57-67-0 | $C_7H_{10}N_4O_2S$ | $[M+H]^+$ | 0.5 | 215.0597 | 1.0 | 2.2/2.1 | +4/–65 |
| Сульфаметоксазол | Sigma-Aldrich, 723-46-6 | $C_{10}H_{11}N_3O_3S$ | $[M+H]^+$ | 3.4 | 254.0594 | 5.0 | 2.7/2.5 | –12/–65 |
| Сульфаметоксипиридазин | Sigma-Aldrich, 80-35-3 | $C_{11}H_{12}N_4O_3S$ | $[M+H]^+$ | 3.2 | 281.0703 | 0.5 | 1.2/1.3 | –35/–58 |
| Сульфамоксол | Sigma-Aldrich, 729-99-7 | $C_{11}H_{13}N_3O_3S$ | $[M+H]^+$ | 2.6 | 268.0750 | 0.5 | 0.9/1.2 | –19/–64 |
| Сульфадиметоксин | Sigma-Aldrich, 122-11-2 | $C_{12}H_{14}N_4O_4S$ | $[M+H]^+$ | 3.9 | 311.0808 | 0.5 | 1.2/1.4 | –11/–73 |
| Триметоприм | Sigma-Aldrich, 738-70-5 | $C_{14}H_{18}N_4O_3$ | $[M+H]^+$ | 2.9 | 291.1452 | 0.5 | 0.7/0.9 | –34/–64 |
| Баквилоприм | Sigma-Aldrich, 102280-35-3 | $C_{17}H_{20}N_6$ | $[M+H]^+$ | 0.6 | 309.1822 | 0.5 | 0.6/0.7 | +3/–57 |
| Сульфаметизол | Sigma-Aldrich, 144-82-1 | $C_9H_{10}N_4O_2S_2$ | $[M+H]^+$ | 2.5 | 271.0318 | 1.0 | 0.5/0.8 | –27/–58 |

**Таблица 2.** Продолжение

| Анатлит | Производитель, CAS номер | Брутто-формула | Ион | $t_R$, мин | $m/z$ | $c_{мин}$, мкг/кг | $k$, вода/матрица | МЭ, % мин/макс |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Сульфаметер | Sigma-Aldrich, 63-74-1 | $C_{11}H_{12}N_4O_3S$ | $[M+H]^+$ | 2.9 | 281.0703 | 0.5 | 0.6/0.7 | −5/−61 |
| Сульфамонометоксин | Sigma-Aldrich, 1220-83-3 | $C_{11}H_{12}N_4O_3S$ | $[M+H]^+$ | 3.2 | 281.0703 | 0.5 | 0.4/0.5 | +10/−30 |
| Сульфасалазин | Sigma-Aldrich, 599-79-1 | $C_{18}H_{14}N_4O_5S$ | $[M+H]^+$ | 4.0 | 399.0758 | 1.0 | 0.9/0/9 | −11/−75 |
| Сульфафеназол | Dr.Ehrenstorfer, 526-08-9 | $C_{11}H_{14}N_4O_2S$ | $[M+H]^+$ | 3.8 | 315.0910 | 0.5 | 0.6/0.7 | +4/−38 |
| Сульфисоксазол | TRC, 127-69-5 | $C_{11}H_{13}N_3O_3S$ | $[M+H]^+$ | 2.6 | 268.0750 | 0.5 | 0.6/0.8 | +3/−26 |
| Сульфанитран | Dr.Ehrenstorfer, 122-16-7 | $C_{14}H_{13}N_3O_5S$ | $[M-H]^-$ | 4.7 | 334.0492 | 1.0 | 0.5/0.7 | −5/−47 |
| Сульфатиазол-$D_4$ | Sigma-Aldrich, 72-14-0 | $C_9H_5D_4N_3O_2S_2$ | $[M+H]^+$ | 1.2 | 260.0460 | 0.5 | | +6/−65 |
| Плевромутилины (2) | | | | | | | | |
| Валнемулин | Sigma-Aldrich, 133868-46-9 | $C_{31}H_{52}N_2O_5S$ | $[M+H]^+$ | 4.4 | 565.3670 | 0.5 | 0.9/0.9 | −38/−87 |
| Валнемулин-$D_6$ | TRC, 1217627-44-5 | $C_{31}H_{46}D_6N_2O_5S$ | $[M+H]^+$ | 4.4 | 571.6321 | | | −38/−80 |
| Тетрациклины (13) | | | | | | | | |
| 4-Эпитетрациклин | Acros organics, 23313-80-6 | $C_{22}H_{24}N_2O_8$ | $[M+H]^+$ | 1.4 | 445.1605 | 1.0 | 0.9/0.9 | −6/−78 |
| 4-Эпиангидротетрациклин | EPRS, 4465-65-0 | $C_{22}H_{22}N_2O_7$ | $[M+H]^+$ | 3.6 | 427.1499 | 1.0 | 0.9/0.9 | −10/−68 |
| 4-Эпидемеклоциклин | LGC, 179471-95-5 | $C_{21}H_{21}ClN_2O_8$ | $[M+H]^+$ | 2.2 | 465.1059 | 1.0 | 1.1/1.0 | −10/−71 |
| 4-Эпидоксициклин | TRC, 6543-77-7 | $C_{22}H_{24}N_2O_8$ | $[M+H]^+$ | 3.3 | 445.1605 | 2.0 | 1.2/1.2 | −31/−77 |
| 4-Эпиметациклин | TRC, 6543-87-8 | $C_{22}H_{22}N_2O_8$ | $[M+H]^+$ | 2.5 | 443.1448 | 1.0 | 1.0/1.0 | −16/−70 |
| 4-Эпиокситетрациклин | Acros organics, 35259-39-3 | $C_{22}H_{24}N_2O_9$ | $[M+H]^+$ | 1.8 | 461.1554 | 1.0 | 1.1/1.0 | −16/−76 |
| 4-Эпихлортетрациклин | Acros organics, 14297-93-9 | $C_{22}H_{23}ClN_2O_8$ | $[M+H]^+$ | 3.2 | 479.1215 | 1.0 | 1.3/1.5 | −31/−76 |
| Ангидротетрациклин | TRC, 13803-65-1 | $C_{22}H_{22}N_2O_7$ | $[M+H]^+$ | 3.8 | 427.1499 | 1.0 | 0.9/1.2 | −10/−68 |
| Демеклоциклин | Sigma-Aldrich, 64-73-3 | $C_{21}H_{21}ClN_2O_8$ | $[M+H]^+$ | 3.2 | 465.1059 | 1.0 | 1.1/1.3 | −16/−76 |
| Доксициклин | BePure, 24390-14-5 | $C_{22}H_{24}N_2O_8$ | $[M+H]^+$ | 3.5 | 445.1605 | 1.0 | 1.2/1.5 | −32/−82 |
| Окситетрациклин | Sigma-Alrdich, 2058-46-0 | $C_{22}H_{24}N_2O_9$ | $[M+H]^+$ | 2.3 | 461.1554 | 1.0 | 1.1/1.3 | −16/−76 |
| Тетрациклин | Sigma-Aldrich, 60-54-8 | $C_{22}H_{24}N_2O_8$ | $[M+H]^+$ | 2.7 | 445.1605 | 1.0 | 0.9/0.9 | −6/−78 |
| Хлортетрациклин | Sigma-Alrdich, 64-72-2 | $C_{22}H_{23}ClN_2O_8$ | $[M+H]^+$ | 3.4 | 479.1215 | 1.0 | 1.3/1.1 | −30/−70 |
| Метациклин | TRC, 3963-95-9 | $C_{22}H_{22}N_2O_8$ | $[M+H]^+$ | 3.5 | 443.1448 | 1.0 | | −16/−70 |
| Красители (7) | | | | | | | | |
| Бриллиантовый зеленый | Sigma-Aldrich, 633-03-4 | $C_{27}H_{33}N_2$ | $[M]^+$ | 5.3 | 385.2638 | 0.5 | 0.9/0.8 | −25/−45 |
| Кристаллический фиолетовый | Sigma-Aldrich, 548-62-9 | $C_{25}H_{30}N_3$ | $[M]^+$ | 5.0 | 372.2434 | 0.5 | 1.0/0.9 | −30/−45 |

**Таблица 2.** Продолжение

| Анатлит | Производитель, CAS номер | Брутто-формула | Ион | $t_R$, мин | $m/z$ | $c_{мин}$, мкг/кг | $k$, вода/матрица | МЭ, % мин/макс |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Лейкомалахитовый зеленый | Dr.Ehrenstorfer, 129-73-7 | $C_{23}H_{26}N_2$ | $[M+H]^+$ | 4.5 | 331.2187 | 0.5 | 6.3/6.0 | –31/–50 |
| Лейкокристаллический фиолетовый | Sigma-Aldrich, 603-48-5 | $C_{25}H_{31}N_3$ | $[M+H]^+$ | 4.0 | 374.2591 | 0.5 | 17/15 | –3/–41 |
| Малахитовый зеленый | Dr.Ehrenstorfer, 2437-29-8 | $C_{23}H_{25}N_2$ | $[M]^+$ | 4.8 | 329.2012 | 0.1 | 0.9/0.8 | –30/–55 |
| Акрифлавин | Sigma-Aldrich, 8048-52-0 | $C_{14}H_{14}N_3$<br>$C_{13}H_{11}N_3$ | $[M]^+$<br>$[M+H]^+$ | 3.8<br>3.7 | 224.1182<br>210.1026 | 1.0 | 2.0/1.9 | –25/–40 |
| Метиленовый синий | Sigma-Aldrich, 122965-43-9 | $C_{16}H_{18}N_3S$ | $[M]^+$ | 3.9 | 284.1216 | 0.5 | 1.8/1.9 | –3/–35 |
| Кристаллический фиолетовый-$D_6$ | Witega, 612-204-00-2 | $C_{25}H_{24}D_6N_3$ | $[M]^+$ | 5.0 | 378.2811 | 0.5 | | –30/–45 |
| Хинолоны (17) | | | | | | | | |
| Данофлоксацин | TRC, 119478-55-6 | $C_{19}H_{20}FN_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 3.4 | 358.1561 | 0.1 | 0.7/0.6 | –5/–63 |
| Дифлоксацин | Sigma-Aldrich, 91296-86-5 | $C_{21}H_{19}F_2N_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 3.5 | 400.1467 | 0.1 | 1.4/1.8 | –45/–78 |
| Левофлоксацин | TRC, 100986-85-4 | $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ | $[M+H]^+$ | 3.2 | 362.1510 | 0.1 | 0.6/0.7 | –5/–63 |
| Ломефлоксацин | Sigma-Aldrich, 98079-52-8 | $C_{17}H_{19}F_2N_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 3.3 | 352.1467 | 0.1 | 0.6/0.7 | –15/–70 |
| Марбофлоксацин | Sigma-Aldrich, 115550-35-1 | $C_{17}H_{19}FN_4O_4$ | $[M+H]^+$ | 2.9 | 363.1463 | 0.1 | 0.5/0.4 | –6/–67 |
| Налидиксовая кислота | LGC, 389-08-2 | $C_{12}H_{12}N_2O_3$ | $[M+H]^+$ | 4.1 | 233.0920 | 1.0 | 1.1/1.0 | –6/–72 |
| Норфлоксацин | Sigma-Aldrich, 70458-96-7 | $C_{16}H_{18}FN_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 3.1 | 320.1404 | 0.1 | 1.0/0.9 | –5/–53 |
| Оксолиновая кислота | Sigma-Aldrich, 14698-29-4 | $C_{13}H_{11}NO_5$ | $[M+H]^+$ | 3.8 | 262.0709 | 1.0 | 1.8/1.5 | –10/–73 |
| Офлоксацин | Sigma-Aldrich, 82419-36-1 | $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ | $[M+H]^+$ | 3.2 | 362.1510 | 0.1 | 0.6/0.5 | –38/–80 |
| Пефлоксацин | TRC, 70458-92-3 | $C_{17}H_{20}FN_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 3.2 | 334.1561 | 0.1 | 0.5/0.5 | –5/–60 |
| Пипемидовая кислота | Sigma-Aldrich, 51940-44-4 | $C_{14}H_{17}N_5O_3$ | $[M+H]^+$ | 1.8 | 304.1399 | 0.5 | 1.2/1.3 | –3/–74 |
| Сарафлоксацин | Sigma-Aldrich, 91296-87-6 | $C_{20}H_{17}F_2N_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 3.5 | 386.1310 | 0.5 | 2.2/2.3 | –70/-80 |
| Спарфлоксацин | TRC, 110871-86-8 | $C_{19}H_{22}F_2N_4O_3$ | $[M+H]^+$ | 3.6 | 393.1733 | 0.1 | 0.8/0.8 | –11/–63 |
| Флумеквин | Dr.Ehrenstorfer, 42835-25-6 | $C_{14}H_{12}FNO_3$ | $[M+H]^+$ | 4.1 | 262.0873 | 1.0 | 0.8/0.9 | –31/–83 |
| Ципрофлоксацин | Sigma-Aldrich, 85721-33-1 | $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 3.2 | 332.1404 | 0.5 | 1.1/1.3 | –3/–60 |
| Эноксацин | TRC, 74011-58-8 | $C_{15}H_{17}FN_4O_3$ | $[M+H]^+$ | 3.0 | 321.1357 | 0.1 | 0.6/0.7 | –4/–58 |
| Энрофлоксацин | Sigma-Aldrich, 93106-60-6 | $C_{19}H_{22}FN_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 3.4 | 360.1717 | 0.1 | 0.7/0.7 | –25/–66 |
| Энрофлоксацин-$D_5$ | Sigma-Aldrich, 1173021-92-5 | $C_{19}H_{17}D_5FN_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 3.4 | 365.2032 | 0.1 | | –25/–63 |

**Таблица 2.** Продолжение

| Анатлит | Производитель, CAS номер | Брутто-формула | Ион | $t_R$, мин | $m/z$ | $c_{мин}$, мкг/кг | $k$, вода/матрица | МЭ, % мин/макс |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Цефалоспорины (20) | | | | | | | | |
| Дезацетил цефапирин | TRC, 104557-24-6 | $C_{15}H_{15}N_3O_5S_2$ | $[M+H]^+$ | 0.9 | 382.0526 | 5.0 | 1.2/1.4 | −13/−68 |
| Цефадроксил | Sigma-Aldrich, 50370-12-2 | $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ | $[M+Na]^+$ | 1.3 | 386.0781 | 5.0 | 15/18 | −15/−76 |
| Цефаклор | EDQM, 53994-73-3 | $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$ | $[M+H]^+$ | 2.9 | 368.0466 | 5.0 | 6.5/6.8 | −3/−80 |
| Цефалексин | Sigma-Aldrich, 15686-71-2 | $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ | $[M+H]^+$<br>$[M+Na]^+$ | 3.5 | 348.1013<br>370.0831 | 1.0 | 4.6/4.9 | −23/−69 |
| Цефалоним | TRC, 5575-21-3 | $C_{20}H_{18}N_4O_5S_2$ | $[M+H]^+$ | 3.3 | 459.0791 | 10.0 | 17/19 | −16/−70 |
| Цефапирин | Sigma-Aldrich, 24356-60-3 | $C_{17}H_{17}N_3O_6S_2$ | $[M+H]^+$ | 2.6 | 424.0631 | 0.5 | 0.9/0.8 | −3/−61 |
| Цефацетрил | TRC, 10206-21-0 | $C_{13}H_{13}N_3O_6S$ | $[M+Na]^+$ | 3.0 | 362.0417 | 0.8 | 17/16 | −10/−58 |
| Цефепим | Santa Cruz Biotechnology, 88040-23-7 | $C_{19}H_{24}N_6O_5S_2$ | $[M+H]^+$ | 1.2 | 481.1322 | 1.0 | 1.8/1.9 | −7/−78 |
| Цефетамет пивоксил | Santa Cruz Biotechnology, 65243-33-6 | $C_{20}H_{25}N_5O_7S_2$ | $[M+H]^+$ | 4.7 | 512.1268 | 1.0 | 0.7/0.8 | −9/−66 |
| Цефкином | Sigma-Aldrich, 118443-89-3 | $C_{23}H_{24}N_6O_5S_2$ | $[M+H]^+$ | 3.5 | 529.1322 | 1.0 | 7.6/7.7 | −10/−67 |
| Цефоперазон | EDQM, 113826-44-1 | $C_{25}H_{27}N_9O_8S_2$ | $[M+Na]^+$ | 4.0 | 668.1316 | 5.0 | 6.3/6.0 | −11/−77 |
| Цефотиам | Sigma-Aldrich, 66309-69-1 | $C_{18}H_{23}N_9O_4S_3$ | $[M+H]^+$<br>$[M+Na]^+$ | 1.0 | 526.1108<br>548.0927 | 3.0 | 4.4/4.8 | −12/−65 |
| Цефотаксим | USP, 64485-93-4 | $C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$ | $[M+H]^+$ | 3.7 | 456.0642 | 1.0 | 1.6/1.8 | −13/−72 |
| Цефпиром | TRC, 98753-19-6 | $C_{22}H_{22}N_6O_5S_2$ | $[M+H]^+$ | 3.3 | 515.1166 | 3.0 | 4.0/4.6 | −10/−88 |
| Цефподоксим проксетил | Sigma-Aldrich, 80210-62-4 | $C_{21}H_{27}N_5O_9S_2$ | $[M+H]^+$ | 4.7 | 558.1322 | 5.0 | 1.0/1.5 | −17/−70 |
| Цефтибутен | Sigma-Aldrich, 97519-39-6 | $C_{15}H_{14}N_4O_6S_2$ | $[M+H]^+$ | 2.0 | 411.0428 | 5.0 | 3.4/3.5 | −15/−63 |
| Цефтиофур | Fluka, 103980-44-5 | $C_{19}H_{17}N_5O_7S_3$ | $[M+H]^+$ | 4.2 | 524.0363 | 5.0 | 1.7/1.9 | −3/−64 |
| Десфуроил цефтиофур | Santa Cruz Biotechnology, 120882-22-6 | $C_{14}H_{15}N_5O_5S_3$ | $[M+H]^+$ | 3.8 | 430.0308 | 3.0 | 2.4/2.8 | −19/−78 |
| Десфуроил цефтиофур цистеин дисульфид | TRC, 158039-15-7 | $C_{17}H_{20}N_6O_7S_4$ | $[M+H]^+$ | 2.9 | 549.0349 | 5.0 | 3.9/3.5 | −10/−69 |
| Цефуроксим | TRC, 55268-75-2 | $C_{16}H_{16}N_4O_8S$ | $[M-H]^-$ | 3.9 | 423.0605 | 10.0 | 4.8/4.2 | −15/−65 |
| Цефетамет-$D_3$ | TRC, 65052-63-3 | $C_{15}H_{12}D_3N_4O_6S_2$ | $[M+H]^+$ | 3.6 | 401.0776 | 1.0 | | −9/−66 |
| Кокцидиостатики (16) | | | | | | | | |
| Ампролиум | Sigma-Aldrich, 137-88-2 | $C_{14}H_{18}N_4$ | $[M+H]^+$ | 0.4 | 243.1604 | 0.5 | 1.5/1.8 | −25/−38 |

**Таблица 2.** Продолжение

| Анатлит | Производитель, CAS номер | Брутто-формула | Ион | $t_R$, мин | *m/z* | $c_{мин}$, мкг/кг | *k*, вода/матрица | МЭ, % мин/макс |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Декоквинат | Sigma-Aldrich, 18507-89-6 | $C_{24}H_{35}NO_5$ | $[M+H]^+$ | 5.7 | 418.2588 | 0.5 | 0.1/0.2 | –2/–68 |
| Диклазурил | Sigma-Aldrich, 101831-37-2 | $C_{17}H_9Cl_3N_4O_2$ | $[M-H]^-$ | 5.7 | 404.9707 | 1.0 | 66/69 | –5/–35 |
| Толтразурил | Fluka, 69004-03-1 | $C_{18}H_{14}F_3N_3O_4S$ | $[M-H]^-$ | 5.9 | 424.0573 | 3.0 | 49/67 | –16/–61 |
| Толтразурила сульфон | Witega, 69004-04-2 | $C_{18}H_{14}F_3N_3O_6S$ | $[M-H]^-$ | 5.6 | 456.0472 | 3.0 | 18/75 | –13/–39 |
| Клопидол | Fluka, 2971-90-6 | $C_7H_7Cl_2NO$ | $[M+H]^+$ | 1.0 | 191.9978 | 0.5 | 0.3/0.5 | –2/–50 |
| Ласалоцид | Santa Cruz Biotechnology, 25999-20-6 | $C_{34}H_{54}O_8$ | $[M+Na]^+$ | 6.6 | 613.3711 | 0.5 | 0.2/0.4 | –2/–31 |
| Мадурамицин | TRC, 84878-61-5 | $C_{47}H_{83}O_{17}N$ | $[M+H]^+$ | 6.7 | 934.5734 | 0.5 | 0.2/0.2 | –2/–25 |
| Монензин | Sigma-Aldrich, 22373-78-0 | $C_{36}H_{62}O_{11}$ | $[M+Na]^+$ | 6.5 | 693.4184 | 0.5 | 0.1/0.1 | –2/37 |
| Наразин | TRC, 55134-13-9 | $C_{43}H_{72}O_{11}$ | $[M+Na]^+$ | 6.9 | 787.4972 | 0.5 | 0.2/0.2 | –3/–38 |
| 4,4 Динитрокарбанилид | Sigma-Aldrich, 330-95-0 | $C_{13}H_{10}N_4O_5$ | $[M-H]^-$ | 5.5 | 301.0567 | 1.0 | 8.5/8.0 | –20/–30 |
| Априноцид | TRC, 55779-18-5 | $C_{12}H_9ClFN_5$ | $[M+H]^+$ | 3.6 | 278.0603 | 1.0 | 0.2/0.2 | –15/–58 |
| Галофугинон | Sigma-Aldrich, 64924-67-0 | $C_{16}H_{17}BrClN_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 3.8 | 416.0193 | 1.0 | 0.5/0.5 | –11/–40 |
| Робенидин | Sigma-Aldrich, 25875-50-7 | $C_{15}H_{13}Cl_2N_5$ | $[M+H]^+$ | 4.5 | 334.0621 | 1.0 | 0.1/0.1 | –25/–58 |
| Салиномицин | Sigma-Aldrich, 55721-31-8 | $C_{42}H_{70}O_{11}$ | $[M+Na]^+$ | 6.7 | 773.4810 | 0.5 | 0.2/0.2 | –3/–32 |
| Этопабат | LGC, 59-06-3 | $C_{12}H_{15}O_4N$ | $[M+H]^+$ | 3.9 | 238.1074 | 1.0 | 2.2/1.9 | –2/–48 |
| 4,4 Динитрокарбанилид-$D_8$ | Witega, 1156508-87-0 | $C_{13}H_2D_8N_4O_5$ | $[M-H]^-$ | 5.3 | 309.1069 | 1.0 | | –20/–30 |
| β-Агонисты (18) | | | | | | | | |
| Бромбутерол | Sigma-Aldrich, 21912-49-2 | $C_{12}H_{18}Br_2N_2O$ | $[M+H]^+$ | 4.7 | 366.9839 | 1.0 | 0.8/0.8 | –5/–75 |
| Гидроксиметилкленбутерол | Sigma-Aldrich, 37162-89-3 | $C_{12}H_{18}Cl_2N_2O_2$ | $[M+H]^+$ | 4.6 | 293.0818 | 1.0 | 0.6/0.7 | –20/–66 |
| Зилпатерол | Witega, 119520-06-8 | $C_{14}H_{19}N_3O_2$ | $[M+H]^+$ | 5.0 | 262.1550 | 1.0 | 0.7/0.7 | –6/–71 |
| Изоксисуприн | Sigma-Aldrich, 579-56-6 | $C_{18}H_{23}NO_3$ | $[M+H]^+$ | 4.3 | 302.1751 | 1.0 | 0.5/0.6 | –14/–71 |
| Кленбутерол | EDQM, 21898-19-1 | $C_{12}H_{18}Cl_2N_2O$ | $[M+H]^+$ | 4.6 | 277.0869 | 1.0 | 1.1/1.0 | –25/–37 |
| Кленпентерол | Sigma-Aldrich, 37158-47-7 | $C_{13}H_{20}Cl_2N_2O$ | $[M+H]^+$ | 4.8 | 291.1025 | 0.5 | 0.5/0.6 | –14/–72 |
| Кленпроперол | Witega, 38339-11-6 | $C_{11}H_{16}Cl_2N_2O$ | $[M+H]^+$ | 4.9 | 263.0712 | 0.5 | 1.0/0.9 | –2/–72 |
| Мабутерол | Fluka, 54240-36-7 | $C_{13}H_{18}ClF_3N_2O$ | $[M+H]^+$ | 4.9 | 311.1133 | 0.5 | 0.6/0.7 | –7/–63 |

**Таблица 2.** Продолжение

| Анатлит | Производитель, CAS номер | Брутто-формула | Ион | $t_R$, мин | *m/z* | $c_{мин}$, мкг/кг | *k*, вода/матрица | МЭ, % мин/макс |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Мапентерол | TRC, 54238-51-6 | $C_{14}H_{20}ClF_3N_2O$ | $[M+H]^+$ | 5.0 | 325.1289 | 0.5 | 0.9/0.9 | −12/−68 |
| Рактопамин | TRC, 90274-24-1 | $C_{18}H_{23}NO_3$ | $[M+H]^+$ | 4.3 | 302.1751 | 1.0 | 0.5/0.6 | −5/−68 |
| Ритодрин | TRC, 23239-51-2 | $C_{17}H_{21}NO_3$ | $[M+H]^+$ | 3.6 | 288.1594 | 1.0 | 0.2/0.2 | −5/−70 |
| Сальбутамол | Britich Pharmacopoeia Chemical Reference Substance, 18559-94-9 | $C_{13}H_{21}NO_3$ | $[M+H]^+$ | 0.8 | 240.1594 | 5.0 | 0.5/0.4 | −3/−13 |
| Тербуталин | Sigma-Aldrich, 23031-32-5 | $C_{12}H_{19}NO_3$ | $[M+H]^+$ | 4.3 | 226.1438 | 1.0 | 0.4/0.5 | −8/−68 |
| Тулобутерол | TRC, 56776-01-3 | $C_{12}H_{18}ClNO$ | $[M+H]^+$ | 4.6 | 228.1150 | 1.0 | 0.7/1.0 | −3/−16 |
| Фенотерол | TRC, 1944-12-3 | $C_{17}H_{21}NO_4$ | $[M+H]^+$ | 3.2 | 304.1543 | 5.0 | 0.4/0.3 | −5/−75 |
| Циматерол | Fluka, 54239-37-1 | $C_{12}H_{17}N_3O$ | $[M+H]^+$ | 0.8 | 220.1444 | 5.0 | 1.4/1.3 | −3/−71 |
| Цимбутерол | Fluka, 54239-39-3 | $C_{13}H_{19}N_3O$ | $[M+H]^+$ | 1.4 | 234.1601 | 1.0 | 0.4/0.3 | −6/−19 |
| Ксилазин | Sigma-Aldrich, 23076-35-9 | $C_{12}H_{16}N_2S$ | $[M+H]^+$ | 4.5 | 221.1107 | 0.5 | 0.6/0.4 | −8/−67 |
| Кленбутерол-$D_9$ | Witega, 184006-60-8 | $C_{12}H_9D_9Cl_2N_2O$ | $[M+H]^+$ | 4.6 | 286.1434 | 1.0 | | −25/−38 |
| Антигельминтики (37) | | | | | | | | |
| Альбендазол | Sigma-Aldrich, 54965-21-8 | $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ | $[M+H]^+$ | 4.0 | 266.0958 | 0.5 | 0.3/0.3 | −21/−49 |
| Альбендазола сульфон | TRC, 75184-71-3 | $C_{12}H_{15}N_3O_4S$ | $[M+H]^+$ | 3.6 | 298.0851 | 0.5 | 1.7/1.6 | −20/−50 |
| Аминофлубендазол | Witega, 82050-13-3 | $C_{14}H_{10}FN_3O$ | $[M+H]^+$ | 3.7 | 256.0881 | 0.5 | 1.0/0.9 | −12/−50 |
| Кетотриклабендазол | HPC standards GmbH, 1201920-88-8 | $C_{13}H_7Cl_3N_2O_2$ | $[M-H]^-$ | 5.5 | 326.9489 | 5.0 | 19/16 | −10/−44 |
| Клорсулон | TRC, 60200-06-8 | $C_8H_8Cl_3N_3O_4S_2$ | $[M-H]^-$ | 4.0 | 377.8944 | 1.0 | 4.3/4.0 | −20/−54 |
| Левамизол | Sigma-Aldrich, 16595-80-5 | $C_{11}H_{12}N_2S$ | $[M+H]^+$ | 1.0 | 205.0794 | 0.1 | 0.1/0.2 | −8/−61 |
| Мебендазол | Fluka, 31431-39-7 | $C_{16}H_{13}N_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 4.0 | 296.1029 | 0.5 | 0.9/0.8 | −2/−70 |
| Морантел | Sigma-Aldrich, 26155-31-7 | $C_{12}H_{16}N_2S$ | $[M+H]^+$ | 3.4 | 221.1107 | 0.5 | 0.3/0.3 | −5/−49 |
| Пириметамин | Dr.Ehrenstorfer, 58-14-0 | $C_{12}H_{13}ClN_4$ | $[M+H]^+$ | 3.7 | 249.0902 | 0.5 | 0.4/0.4 | −4/−56 |
| Празиквантел | Sigma-Aldrich, 55268-74-1 | $C_{19}H_{24}N_2O_2$ | $[M+H]^+$ | 4.6 | 313.1910 | 2.0 | 1.3/1.2 | −1/−48 |
| Тиабендазол | Sigma-Aldrich, 148-79-8 | $C_{10}H_7N_3S$ | $[M+H]^+$ | 1.2 | 202.0433 | 0.5 | 0.2/0.2 | −2/−71 |
| Триклабендазол | TRC, 68786-66-3 | $C_{14}H_9Cl_3N_2OS$ | $[M+H]^+$ | 5.2 | 358.9574 | 1.0 | 1.0/0.9 | −9/−50 |

**Таблица 2.** Продолжение

| Анатлит | Производитель, CAS номер | Брутто-формула | Ион | $t_R$, мин | *m/z* | $c_{мин}$, мкг/кг | *k*, вода/матрица | МЭ, % мин/макс |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Фенбендазол | Sigma-Aldrich, 43210-67-9 | $C_{15}H_{13}N_3O_2S$ | $[M+H]^+$ | 4.3 | 300.0806 | 0.5 | 0.4/0.3 | –4/–51 |
| Фебантел | Sigma, 58306-30-2 | $C_{20}H_{22}N_4O_6S$ | $[M+H]^+$ | 4.9 | 447.1333 | 0.1 | 0.7/0.6 | –2/–44 |
| Флубендазол | Dr.Ehrenstorfer, 31430-15-6 | $C_{16}H_{12}N_3O_3F$ | $[M+H]^+$ | 4.1 | 314.0941 | 0.5 | 1.8/1.9 | –6/–68 |
| Оксибендазол | Dr.Ehrenstorfer, 20559-55-1 | $C_{12}H_{15}N_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 3.7 | 250.1191 | 0.5 | 4.0/4.4 | –9/–49 |
| Альбендазол-2-аминосульфон | Sigma-Aldrich, 80983-34-2 | $C_{10}H_{13}N_3O_2S$ | $[M+H]^+$ | 1.2 | 240.0801 | 1.0 | 0.4/0.3 | –2/–47 |
| Камбендазол | Dr.Ehrenstorfer, 26097-80-3 | $C_{14}H_{14}N_4O_2S$ | $[M+H]^+$ | 3.6 | 303.0910 | 1.0 | 0.5/0.5 | –7/–75 |
| Клозантел | Sigma-Aldrich, 57808-65-8 | $C_{22}H_{14}Cl_2N_2O_2I_2$ | $[M-H]^-$ | 6.9 | 660.8438 | 0.5 | 0.4/0.4 | –12/–61 |
| Клотримазол | TRC, 23593-75-1 | $C_{22}H_{17}ClN_2$ | $[M+H]^+$ | 4.3 | 345.1153 | 1.0 | 30/25 | –10/–50 |
| Аминомебендазол | Witega, 52329-60-9 | $C_{14}H_{11}N_3O$ | $[M+H]^+$ | 3.6 | 238.0975 | 1.0 | 0.9/0.8 | –1/–47 |
| Гидроксимебендазол | Witega, 60254-95-7 | $C_{16}H_{15}N_3O_3$ | $[M+H]^+$ | 3.6 | 298.1186 | 1.0 | 1.1/1.0 | –8/–67 |
| Никлозамид | Sigma-Aldrich, 73360-56-2 | $C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$ | $[M-H]^-$ | 5.9 | 324.9777 | 1.0 | 0.1/0.1 | –13/–76 |
| Оксибендазола амин | Witega, 1538624-34-8 | $C_{10}H_{13}N_3O$ | $[M+H]^+$ | 3.5 | 192.1131 | 1.0 | 0.7/0.7 | –1/–47 |
| Оксиклозанид | Sigma-Aldrich, 2277-92-1 | $C_{13}H_6Cl_5NO_3$ | $[M-H]^-$ | 5.9 | 399.8678 | 1.0 | 0.1/0.1 | –1/–49 |
| Оксфендазола сульфон | Dr.Ehrenstorfer, 54029-20-8 | $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ | $[M+H]^+$ | 3.9 | 332.0699 | 1.0 | 0.7/0.6 | –2/–54 |
| Оксфендазол | Sigma-Aldrich, 53716-50-0 | $C_{15}H_{13}N_3O_3S$ | $[M+H]^+$ | 3.7 | 316.0750 | 1.0 | 1.3/1.4 | –6/–47 |
| Парбендазол | Sigma-Aldrich, 14255-87-9 | $C_{13}H_{17}N_3O_2$ | $[M+H]^+$ | 4.1 | 248.1394 | 1.0 | 0.6/0.5 | –15/–76 |
| Пирантел | Sigma-Aldrich, 22204-24-6 | $C_{11}H_{14}N_2S$ | $[M+H]^+$ | 2.1 | 207.0950 | 0.5 | 0.1/0.1 | –21/–80 |
| Рафоксанид | Sigma-Aldrich, 22662-39-1 | $C_{19}H_{11}Cl_2NO_3I_2$ | $[M-H]^-$ | 7.2 | 623.8121 | 1.0 | 0.2/0.2 | –26/–69 |
| Гидрокситиабендазол | Witega, 948-71-0 | $C_{10}H_7N_3OS$ | $[M+H]^+$ | 0.8 | 218.0383 | 1.0 | 0.3/0.3 | –31/–75 |
| Триклабендазола сульфон | Witega, 106791-37-1 | $C_{14}H_9Cl_3N_2O_3S$ | $[M+H]^+$ | 4.9 | 390.9472 | 0.5 | 8.1/7.9 | –20/–48 |
| Триклабендазола сульфоксид | Witega, 100648-13-3 | $C_{14}H_9Cl_3N_2O_2S$ | $[M+H]^+$ | 4.7 | 374.9523 | 0.5 | 4.1/4.5 | –41/–79 |
| Аминотриклабен-дазол | Sigma-Aldrich, 1448346-37-9 | $C_{13}H_8Cl_3N_3O$ | $[M+H]^+$ | 4.3 | 327.9806 | 0.5 | 0.7/0.8 | –15/–73 |
| Нитроксинил | Witega, 1689-89-0 | $C_7H_3N_2O_3I$ | $[M-H]^-$ | 4.7 | 288.9105 | 0.5 | 0.1/0.1 | –2/–45 |
| Нетобимин | TRC, 88254-99-3 | $C_{14}H_{20}N_4O_7S_2$ | $[M+H]^+$ | 3.9 | 421.0846 | 1.0 | 2.7/2.5 | –20/–65 |
| Триклабендазол-$D_3$ | Witega, 1353867-93-2 | $C_{14}H_6D_3N_2OSCl_3$ | $[M+H]^+$<br>$[M-H]^-$ | 5.1<br>5.9 | 361.9762<br>359.9606 | 1.0<br>1.0 | | –8/–49 |

**Таблица 2.** Окончание

| Анатлит | Производитель, CAS номер | Брутто-формула | Ион | $t_R$, мин | $m/z$ | $c_{мин}$, мкг/кг | $k$, вода/матрица | МЭ, % мин/макс |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Нестероидные противовоспалительные средства (19) | | | | | | | | |
| Антипирин | Sigma-Aldrich, 60-80-0 | $C_{11}H_{12}N_2O$ | [M+H]+ | 3.1 | 189.1017 | 0.5 | 0.5/0.4 | –28/–59 |
| Аминоантипирин | Sigma-Aldrich, 83-07-8 | $C_{11}H_{13}N_3O$ | [M+H]+ | 1.0 | 204.1131 | 2.0 | 0.5/0.5 | –25/–60 |
| Ацетиламиноантипирин | Sigma-Aldrich, 83-15-8 | $C_{13}H_{15}N_3O_2$ | [M+H]+ | 2.0 | 246.1237 | 2.0 | 0.5/0.4 | –21/–49 |
| Диметиламиноантипирин | Acros Organics, 58-15-1 | $C_{13}H_{17}N_3O$ | [M+H]+ | 1.0 | 232.1444 | 2.0 | 0.5/0.5 | –19/–50 |
| Изопропиламиноантипирин | TRC, 3615-24-5 | $C_{14}H_{19}N_3O$ | [M+H]+ | 1.9 | 246.1600 | 2.0 | 0.5/0.5 | –11/–60 |
| Дапсон | Sigma-Aldrich, 80-08-0 | $C_{12}H_{12}N_2O_2S$ | $[M+H]^+$ | 2.4 | 249.0692 | 0.5 | 0.5/0.5 | –12/–36 |
| Диклофенак | Sigma-Aldrich, 15307-79-6 | $C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$ | $[M-H]^-$ | 5.6 | 294.0083 | 2.0 | 0.9/0.9 | –34/–58 |
| Кетопрофен | Sigma-Aldrich, 22071-15-4 | $C_{16}H_{14}O_3$ | $[M-H]^-$ | 5.1 | 253.0859 | 10.0 | 0.8/0.8 | –11/–46 |
| Мелоксикам | LGC, 71125-38-7 | $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$<br>$C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$ | $[M+H]^+$<br>$[M-H]^-$ | 4.5<br>5.1 | 352.0420<br>350.0264 | 0.5 | 1.2/1.1<br>1.2/1.3 | –8/–63 |
| Метиламиноантипирин | TRC, 519-98-2 | $C_{12}H_{15}N_3O$ | [M+H]+ | 0.9 | 218.1282 | 0.5 | 0.5/0.4 | –20/–60 |
| Толфенамовая кислота | Sigma-Aldrich, 13710-19-5 | $C_{14}H_{12}ClNO_2$ | $[M-H]^-$ | 6.0 | 260.0478 | 1.0 | 1.8/1.8 | –21/–80 |
| Флуфенамовая кислота | Sigma-Aldrich, 530-78-9 | $C_{14}H_{10}F_3NO_2$ | $[M-H]^-$ | 5.9 | 280.0580 | 2.0 | 2.2/2.5 | –21/–80 |
| Фенилбутазон | Sigma-Aldrich, 50-33-9 | $C_{19}H_{20}N_2O_2$ | $[M-H]^-$ | 5.8 | 307.1447 | 0.5 | 1.7/1.8 | –18/–70 |
| Флуниксин | Sigma-Aldrich, 1015856-60-6 | $C_{14}H_{11}N_2O_2F_3$ | $[M+H]^+$<br>$[M-H]^-$ | 4.5<br>5.1 | 297.0845<br>295.0689 | 0.5 | 1.2/1.5<br>0.6/0.6 | –19/–52 |
| Гидроксифлуниксин | Fluka, 75369-61-8 | $C_{14}H_{11}N_2O_3F_3$ | $[M+H]^+$<br>$[M-H]^-$ | 4.4<br>5.0 | 313.0795<br>311.0638 | 1.0 | 1.2/1.4<br>0.8/0.9 | –22/–46 |
| Флурбипрофен | Pharmaffiates, 5104-49-4 | $C_{15}H_{13}FO_2$ | $[M+H]^+$ | 4.0 | 245.0972 | 1.0 | 1.2/1.4 | –10/–52 |
| Нифлумовая кислота | TRC, 4394-00-7 | $C_{13}H_9N_2O_2F_3$ | $[M+H]^+$<br>$[M-H]^-$ | 4.9<br>5.6 | 283.0689<br>281.0532 | 5.0 | 1.2/1/2<br>1.4/1.4 | –35/–78 |
| Мефенамовая кислота | Sigma-Aldrich, 61-68-7 | $C_{15}H_{15}NO_2$ | $[M+H]^+$ | 5.3 | 242.1176 | 5.0 | 5.6/5.3 | –21/–80 |
| Рифампицин | TRC, 13292-46-1 | $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ | $[M+H]^+$ | 4.7 | 823.4124 | 1.0 | 3.2/3.5 | –16/–51 |
| Мелоксикам-$D_3$ | Witega, 942047-63-4 | $C_{14}H_{10}D_3N_3O_4S_2$ | $[M+H]^+$<br>$[M-H]^-$ | 4.4<br>5.1 | 355.0609<br>353.0452 | 0.5 | | –9/–60 |

*Обозначения*: АМОЗ – 3-амино-5-морфолинометил-1,3-оксазолидинон; АОЗ – 3-амино-2-оксазолидинон; АГД – 1-аминогидантоин; СЕМ – семикарбазид.

Осуществляли градиентное элюирование: 0 мин – 5% Б, 0.5 мин – 5% Б, 2 мин – 50% Б, 5 мин – 100% Б, 6 мин – 5% Б, 10 мин – 5% Б. Скорость потока подвижной фазы 0.4 мл/мин. Температура хроматографической колонки 50 °С, объем вводимой пробы 50 мкл. Температура термостата автосамплера 10 °С.

Использовали электрораспылительную ионизацию в устройстве ionBooster (Bruker Daltonics, Германия). Оптимальные значения параметров устройства: напряжение на щите капилляра 400 В, на капилляре 1 000 В, давление газа-распылителя азота 4.76 атм, поток газа-осушителя азота 6 л/мин,

температура газа-осушителя азота 200 °С, поток газа-испарителя азота 250 л/ч, температура газа-испарителя азота 250 °С.

Диапазон регистрируемых масс ионов 100–1 100 Да. Для калибровки использовали 10 мМ раствор формиата натрия в смеси вода–изопропанол (1:1) в интервале хроматографирования 9.5–10 мин.

**Пробы.** Анализируемые пробы получены ФГБУ "Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов" (ФГБУ "ВГНКИ") в рамках государственного ветеринарного лабораторного мониторинга, осуществляемого Россельхознадзором. Мясо, печень, почки, шпик хранили при –20 °С в холодильнике в течение месяца, перед анализом замороженные продукты измельчали с использованием бытового миксера; молоко, мёд, яйца хранили при 4 °С в течение месяца. Перед анализом яйца освобождали от скорлупы, объединяли 6 штук в одну пробу и тщательно перемешивали с использованием бытового миксера.

**Идентификация и определение.** Идентификацию ветеринарных препаратов по полученным хроматограммам проводили с использованием программного продукта DataAnalysis-4.1, TargetAnalysis (Bruker Daltonics, Германия), составление картины изотопного распределения аналитов – с использованием IsotopePattern (Bruker Daltonics, Германия).

Неизвестную концентрацию аналита в пробе определяли методом изотопного разбавления. В анализируемую пробу вводили смесь дейтерированных внутренних стандартов (5–10 нг/г, для тетрациклинов в качестве внутреннего стандарта использовали 50 нг/г метациклина), проводили анализ и концентрацию рассчитывали с использованием поправочных коэффициентов для каждого аналита (см. табл. 2):

$$c_{\text{х}} = c_{\text{доб}} \cdot S_{\text{х}} \cdot k \,/\, S_{\text{в.ст.х}},$$

где $c_{\text{доб}}$ – концентрация добавки внутреннего стандарта, нг/г; $S_{\text{х}}$, $S_{\text{в.ст.х}}$ – площади хроматографических пиков обнаруженного аналита в пробе и соответствующего данному классу аналитов внутреннего стандарта соответственно; $k$ – поправочный коэффициент.

Поправочные коэффициенты рассчитывали предварительно на уровнях концентраций 1, 10, 20, 50 и 100 нг/мл по соотношениям площадей пиков стандартных растворов аналитов и внутренних стандартов (использовали среднее значение):

$$k = S_d \,/\, S_0,$$

где $S_d$, $S_0$ – площади хроматографических пиков внутреннего стандарта и аналита соответственно.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Оптимизация условий разделения.** Выбор колонки осуществляли из следующих: 30×2.1 мм, 50×2.1 мм, 100×2.1 мм ACQUITY UPLC® BEN C18, 50×2.1 мм ACQUITY UPLC® Shield RP18, 50×2.1 мм ACQUITY UPLC® Phenyl (все с диаметром зернения 1.7 мкм) (Waters, США), 50×2.1 мм Acclaim™ 120 C18, диаметр зернения 2.2 мкм и 3.0 мкм (Thermo Scientific, США). Однако эффективность колонки ACQUITY UPLC® BEN C18 (30×2.1 мм, 1.7 мкм) оказалась несколько выше (число теоретических тарелок $N = 8\,759$ для энрофлоксацина), чем у других ($N = 5\,346$–$7\,863$), селективность для всех колонок оказалась одинаковой. В дальнейших исследованиях использовали колонку 30×2.1 мм ACQUITY UPLC® BEN C18. Однако следует отметить, что использование любых из перечисленных колонок не приводило к существенному изменению основных аналитических характеристик методики.

При выборе подвижной фазы использовали воду, ацетонитрил и метанол без добавок и с добавками муравьиной кислоты и формиата аммония. В итоге установили оптимальный вариант: А – 0.1%-ный водный раствор муравьиной кислоты, Б – 0.1%-ный ацетонитрильный раствор муравьиной кислоты. Добавки формиата аммония и использование метанола в качестве подвижной фазы не привели к существенному увеличению хроматографических пиков исследуемых аналитов.

При выборе скорости потока подвижной фазы и градиента лучшие результаты получили при скорости 0.4 мл/мин и следующем градиенте: 0 мин – 5% Б, 0.5 мин – 5% Б, 2 мин – 50% Б, 5 мин – 100% Б, 6 мин – 5% Б, 10 мин – 5% Б.

Температуру термостата хроматографической колонки выбирали из 30, 40, 50 и 60 °С, инжектируемый объем пробы из 5, 10, 20, 50, 60 и 100 мкл. Установили, что для достижения высокой чувствительности определения следует использовать температуру хроматографической колонки 50 °С (при этом давление подвижной фазы в хроматографической колонке составило 160–170 бар) и оптимальный объем вводимой в инжектор пробы – 50 мкл (объем более 50 мкл приводил к искажению симметричности хроматографического пика).

Использование УВЭЖХ значительно сокращает время хроматографирования. В данной работе

продолжительность разделения аналитов на колонке длиной 30 мм составила 8 мин. Общее время хроматографирования составило 10–12 мин с учетом кондиционирования колонки и времени калибровки по массам ионов.

**Оптимизация пробоподготовки.** Для пробоподготовки использовали экстракцию ацетонитрилом в нейтральной и кислой средах (с добавлением янтарной кислоты). В первом и во втором случаях добавляли ЭДТА для связывания ионов металлов в комплексы с целью предотвращения образования комплексов с аналитами. Варьирование различных параметров – массы навески пробы, количества высаливателя и экстрагента, природы высаливателя, количества ЭДТА, а также учет матричного эффекта позволил оптимизировать условия пробоподготовки. Кроме того, добавление метанола в экстракт после его упаривания способствовало образованию протонированных аддуктов пенициллинов с метанолом.

**Ионы при электрораспылительной ионизации**. Большинство рассматриваемых соединений образует протонированные аддукты либо депротонируются (табл. 2). Для некоторых классов соединений отмечали особенности. Так, приготовление стандартных растворов пенициллинов в метаноле и добавление метанола в экстракт пробы приводит к появлению положительно заряженных протонированных аддуктов пенициллинов с метанолом $[M+CH3OH+H]^+$, использование которых в анализе позволило значительно увеличить чувствительность определения аналитов. Спирамицин и тулатромицин образуют двухзарядные ионы $[M+2H]^{2+}$, амфениколы – аддукты с хлором $[M+Cl]^-$, цефадроксил, цефалексин, цефацетрил, цефаперазон, цефотиам, ласалоцид, наразин, монензин и салиномицин – аддукты с натрием $[M+Na]^+$.

**Матричный эффект.** Для минимизации МЭ оптимизировали условия пробоподготовки без очистки методом твердофазной экстракции. Установили, что при данных условиях матричный эффект максимален для печени и мёда (>–80%), минимален для молока, мяса различных животных (>–40%). Матрица оказывает незначительное влияние в области времени удерживания исследуемых аналитов (0.5–2, 3–6 мин). Для нивелирования матричного эффекта применяли изотопно меченные стандарты и приём изотопного разбавления для определения концентрации аналитов.

**Метод изотопного разбавления.** В табл. 2 представлены аналитические характеристики, полученные при оценке остаточных содержаний 214 ветеринарных препаратов. Установили, что поправочный коэффициент $k$ имеет практически одинаковые значения для водных растворов аналитов и экстрактов из различных матриц (молоко, мясо, субпродукты и пр.). Это позволило нам не использовать матричные градуировочные зависимости, а применить метод изотопного разбавления для расчета концентраций аналитов с учётом поправочного коэффициента (для каждого класса рассматриваемых соединений предложен один изотопно меченный стандарт) (табл. 2).

**Идентификацию** проводили по полученным масс-хроматограммам с помощью программного продукта Target-Analysis-1.3. Идентификационными параметрами служили времена удерживания (±0.1 мин), точность массы моноизотопа $m/z$ (±5 млн$^{-1}$) и совпадение картины изотопного распределения (mSigma <20). Погрешность в определении масс ионов не превышала 2 млн$^{-1}$.

**Анализ проб.** В соответствии с разработанной методикой проводили скрининг проб пищевых продуктов на рассматриваемые аналиты. В случае выявления какого-либо соединения определяли его содержание расчётным способом, используя метод изотопного разбавления. В табл. 3 представлены некоторые результаты определения при выявлении остаточных количеств рассматриваемых соединений в пищевых продуктах. Как видно, полученные данные хорошо согласуются с результатами анализа по ГОСТ 34533-2019, 31694-2012, 34136-2017, 33486-2015, 32797-2014, 32014-2012, 34137-2017, 34535-2019, 32834-2014, 32881-2014 и МУ А-1/080. Следует отметить, что данный способ скрининга проб и оценки остаточных содержаний ветеринарных препаратов позволяет существенно сократить продолжительность (до 40–50 мин) и стоимость анализа.

* * *

Разработка УВЭЖХ-методик позволяет сократить продолжительность анализа, а при совмещении с МС/МС и МС-ВП разработать простые, недорогие методики, характеризующиеся высокой точностью. Метод ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения максимально подходит для решения повседневных задач, таких как скрининг проб и определение остаточных содержаний ветеринарных препаратов и их метаболитов в случае установления соответствия продукции законодательным требованиям. Рассмотрены упрощенная пробоподготовка и применение изотопного разбавления для оценки

**Таблица 3**. Результаты анализа пищевых продуктов по разработанной методике и по ГОСТ ($n = 3$, $P = 0.95$)

| Матрица | Аналит | Найдено по разработанной методике, мкг/кг | $s_r$ | Найдено по ГОСТ, мкг/кг | $s_r$ |
|---|---|---|---|---|---|
| Молоко № 1 | Цефтиофур | 5.4±0.1 | 0.08 | 4.9±0.2 | 0.09 |
| | Нафциллин | 9.7±0.2 | 0.05 | 9.9±0.1 | 0.04 |
| Молоко № 2 | Цефтиофур | 3.2±0.1 | 0.10 | 2.9±0.2 | 0.13 |
| | Нафциллин | 2.4±0.1 | 0.11 | 2.9±0.2 | 0.12 |
| Молоко № 3 | Цефтиофур | 9.6±0.2 | 0.08 | 9.9±0.3 | 0.09 |
| | Нафциллин | 0.30±0.08 | 0.11 | 0.35±0.06 | 0.12 |
| Говядина | Цефтиофур | 0.22±0.06 | 0.13 | 0.21±0.07 | 0.13 |
| | Нафциллин | 0.43±0.05 | 0.12 | 0.38±0.07 | 0.13 |
| | Цефуроксим | 5.64±0.08 | 0.10 | 5.39±0.06 | 0.09 |
| Творог | Цефтиофур | 5.0±0.1 | 0.09 | 4.3±0.2 | 0.09 |
| | Нафциллин | 2.2±0.1 | 0.09 | 2.3±0.1 | 0.09 |
| Яйца куриные | Пиперациллин | 7.6±0.1 | 0.08 | 7.3±0.1 | 0.09 |
| | Цефтиофур | 5.8±0.1 | 0.09 | 5.6±0.1 | 0.09 |
| Мясо курицы | Цефотаксим | 40 ± 2 | 0.08 | 43±3 | 0.08 |
| Мясо цыплёнка бройлера | Ципрофлоксацин | 43±5 | 0.02 | 49±3 | 0.02 |
| Мясо курицы | Хлорамфеникол | 8.2±0.9 | 0.03 | 6.1±0.4 | 0.02 |
| Колбаса | Окситетрациклин | 18±4 | 0.03 | 12±6 | 0.03 |
| | Доксициклин | 8.0±0.3 | 0.02 | 8.0±0.9 | 0.02 |
| Говядина | Хлорамфеникол | 20±6 | 0.01 | 17±4 | 0.02 |
| Яйцо | Ципрофлоксацин | 18±2 | 0.02 | 16±5 | 0.02 |
| Рыба | Энрофлоксацин | 84±7 | 0.03 | 90±6 | 0.03 |
| | Ципрофлоксацин | 5.4±0.6 | 0.02 | 4.1±0.8 | 0.02 |

концентрации 214 аналитов. Исключены стадии твердофазной экстракции, матричной градуировки. Предложено для каждого класса соединений использовать один изотопно меченный стандарт. Установлено, что поправочный коэффициент не меняется при использовании водных растворов аналитов и аналитов, извлеченных из различных матриц. Для определения концентрации в пробу вводят изотопно меченные стандарты, проводят пробоподготовку и хроматографирование, в случае обнаружения какого-либо лекарственного средства концентрацию рассчитывают с учетом поправочного коэффициента. Предлагаемая методика не требует дополнительной очистки образцов и позволяет одновременно идентифицировать остаточные содержания 214 лекарственных препаратов для ветеринарного применения на уровне их предела обнаружения 0.1–10.0 нг/г. Продолжительность анализа проб не превышает 40–50 мин.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Jia W., Chu X., Chang J., Wang P.G., Chen Y., Zhang F.* High-throughput untargeted screening of veterinary drug residues and metabolites in tilapia using high resolution orbitrap mass spectrometry // Anal. Chim. Acta. 2017. V. 957. P. 29.
2. *Regal P., Lamas A., Franco C.M., Cepeda A.* Veterinary drugs: Progress in multiresidue technique / Encyclopedia of Food Chemistry / Eds. Melton L., Shahidi F., Varelis P. Academic Press, 2019. 2194 p.
3. *Frenich A.G., Romero-González R., del Mar Aguilera-Luiz M.* Comprehensive analysis of toxics (pesticides, veterinary drugs and mycotoxins) in food by UHPLC–MS // Trends Anal. Chem. 2014. V. 63. P. 158.

4. *Лаврухина О.И., Амелин В.Г., Киш Л.К., Третьяков А.В., Пеньков Т.Д.* Определение остаточных количеств антибиотиков в объектах окружающей среды и пищевых продуктах // Журн. аналит. химии. 2022. Т. 77. № 11. С. 969.

5. *Jia W., Liu Y., Xu X., Zhang Y., Shi L.* Comprehensive multiplexed analysis of risky drugs in eggs based on magnetic zeolitic imidazolate frameworks and UHPLC Q-Orbitrap HRMS // J. Food Drug Anal. 2021. V. 29. № 3. Article 7.

6. *De Oliveira Arias J.L., Schneider A., Batista-Andrade J.A., Vieira A.A., Caldas S.S., Primel E.G.* Chitosan from shrimp shells: A renewable sorbent applied to the clean-up step of the QuEChERS method in order to determine multi-residues of veterinary drugs in different types of milk // Food Chem. 2018. V. 240. P. 1243.

7. *Neely S., Martin J., da Cruz N.F., Piester G., Robinson M., Okoniewski R., Tran B.*N. Application of dispersive solid phase extraction for trace analysis of toxic chemicals in foods // J. Chromatogr. B: Analyt. Technol. Biomed Life Sci. 2018. V. 1092. P. 65.

8. *Al Tamim A., Alzahrani S., Al-Subaie S., Almutairi M.A., Al Jaber A., Alowaifeer A.M.* Fast simultaneous determination of 23 veterinary drug residues in fish, poultry, and red meat by liquid chromatography/tandem mass spectrometry // Arab. J. Chem. 2022. V. 15. № 10. Article 104116.

9. *Liu H., Lin T., Cheng X., Li N., Wang L., Li Q.* Simultaneous determination of anabolic steroids and β-agonists in milk by QuEChERS and ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry // J. Chromatogr. B: Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 2017. V. 1043. P. 176.

10. *Imamoglu H., Oktem Olgun E.* Analysis of veterinary drug and pesticide residues using the ethyl acetate multiclass/multiresidue method in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry // J. Anal. Methods Chem. 2016. 2016. Article 2170165.

11. *Zhang L., Shi L., He Q., Li Y.* A rapid multiclass method for antibiotic residues in goat dairy products by UPLC-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry // J Anal. Sci. Technol. 2021. V. 12. 14.

12. *Мелехин А.О., Толмачева В.В., Шубина Е.Г., Дмитриенко С.Г., Апяри В.В., Грудев А.И.* Применение сверхсшитого полистирола для многокомпонентной твердофазной экстракции остатков 63 ветеринарных препаратов при их определении в курином мясе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии–тандемной масс-спектрометрии // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № . 8. С. 708.

13. *Castilla-Fernández D., Moreno-González D., Beneito-Cambra M., Molina-Díaz A.* Critical assessment of two sample treatment methods for multiresidue determination of veterinary drugs in milk by UHPLC–MS/MS // Anal. Bioanal. Chem. 2019. V. 411. P. 1433.

14. *Jia W., Chu X., Ling Y., Huang J., Chang J.* High-throughput screening of pesticide and veterinary drug residues in baby food by liquid chromatography coupled to quadrupole Orbitrap mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2014. V. 1347. P. 122.

15. *Wang C., Li X., Yu F., Wang Y., Ye D., Hu X., Zhou L., Du J., Xia X.* Multi-class analysis of veterinary drugs in eggs using dispersive-solid phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // Food Chem. 2021. V. 334. Article 127598.

16. *Geis-Asteggiante L., Lehotay S.J., Lightfield A.R., Dutko T., Ng C., Bluhm L.* Ruggedness testing and validation of a practical analytical method for >100 veterinary drug residues in bovine muscle by ultrahigh performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2012. V. 1258. P. 43.

17. *Desmarchelier A., Fan K., Minh Tien M., Savoy M.C., Tarres A., Fuger D., Goyon A., Bessaire T., Mottier P.* Determination of 105 antibiotic, anti-inflammatory, antiparasitic agents and tranquilizers by LC–MS/MS based on an acidic QuEChERS-like extraction // Food Addit. Contam. Part A: Chem. Anal. Control Expo Risk Assess. 2018. V. 35. № 4. P. 646.

18. *Casey C.R., Andersen W.C., Williams N.T., Nickel T.J., Ayres P.R.* Multiclass, multiresidue method for the quantification and confirmation of 112 veterinary drugs in game meat (bison, deer, elk, and rabbit) by rapid polarity switching liquid chromatography-tandem mass spectrometry // J. Agric. Food Chem. 2021. V. 69. № 4. P. 1175.

19. *Pérez-Ortega P., Lara-Ortega F.J., Gilbert-López B., Moreno-González D., García-Reyes J.F., Molina-Díaz A.* Screening of over 600 pesticides, veterinary drugs, food-packaging contaminants, mycotoxins, and other chemicals in food by ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UHPLC-QTOFMS) // Food Anal. Methods. 2017. V. 10. P. 1216.

20. *Melekhin A.O., Tolmacheva V.V., Goncharov N.O., Apyari V.V., Dmitrienko S.G., Shubina E.G., Grudev A.I.* Multi-class, multi-residue determination of 132 veterinary drugs in milk by magnetic solid-phase extraction based on magnetic hypercrosslinked polystyrene prior to their determination by high-performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry // Food Chem. 2022. V. 387. Article 132866.

21. *Cao G., Zhan J., Shi X., Deng X., Zhu J., Wu W., Chen X.* Analysis of 140 veterinary drugs and other contaminants in poultry muscle by ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // Chromatographia. 2018. V. 81. P. 707.

22. *Li X., Chi Q., Xia S., Pan Y., Chen Y., Wang K.* Untargeted multi-residue method for the simultaneous determination of 141 veterinary drugs and their metabolites in pork by high-performance liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2020. V. 1634. Article 461671.

23. *Zhao W., Jiang R., Guo W., Li S., Wang J., Wang S., Li Y.* Screening and analysis of multiclass veterinary drug residues in animal source foods using UPLC-Q-Exactive Orbitrap/MS // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2021. V. 107. P. 228.

24. *Wang J., Zhao W., Guo W., Li Y., Jiang R., Li H., Wang S., Li Z.* Simultaneous screening and analysis of 155 veterinary drugs in livestock foods using ultra-high performance liquid chromatography tandem quadrupole linear-ion-trap mass spectrometry // Food Chem. 2022. V. 393. Article 133260.

25. *Pugajeva I., Ikkere L.E., Judjallo E., Bartkevics V.* Determination of residues and metabolites of more than 140 pharmacologically active substances in meat by liquid chromatography coupled to high resolution Orbitrap mass spectrometry // J. Pharm. Biomed. Anal. 2019. V. 166. P. 252.

26. *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. P. 287.

27. *Bai M., Tang R., Li G., She W., Chen G., Shen H., Zhu S., Zhang H., Wu H.* High-throughput screening of 756 chemical contaminants in aquaculture products using liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry // Food Chem: X. 2022. V. 15. Article 100380.

28. *Kong C., Wang Y., Huang Y.* Multiclass screening of >200 pharmaceutical and other residues in aquatic foods by ultrahigh-performance liquid chromatography–quadrupole-Orbitrap mass spectrometry // Anal. Bioanal. Chem. 2018. V. 410. P. 5545.

29. *Zhan J., Shi X.-Z., Xu X.-W., Cao G.-Z., Chen X.-F.* Generic and rapid determination of low molecular weight organic chemical contaminants in protein powder by using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // J. Chromatogr. B. 2020. V. 1138. Article 121967.

30. *Kuchař L., Asfaw B., Rybová J., Ledvinová J.* Chapter five – Tandem mass spectrometry of sphingolipids: Applications for diagnosis of sphingolipidoses / Advances in Clinical Chemistry / Ed. Makowski G.S. Elsevier, 2016. V. 77. P. 177.

31. *Kaufmann A., Butcher P., Maden K., Widmer M.* Quantitative multiresidue method for about 100 veterinary drugs in different meat matrices by sub 2-μm particulate high-performance liquid chromatography coupled to time of flight mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2008. V. 1194. P. 66.

32. *Stolker A.A.M., Rutgers P., Oosterink E., Lasaroms J.J.P., Petrs P.J.R., Rhijn J.A., Nielen M.W.F.* Comprehensive screening and quantification of veterinary drugs in milk using UPLC-ToF-MS // Anal. Bioanal. Chem. 2008. V. 391. P. 2309.

33. *Ortelli D., Cognard E., Jan Ph., Edder P.* Comprehensive fast multiresidue screening of 150 veterinary drugs in milk by ultra-performance liquid chromatography coupled to time of flight mass spectrometry // J. Chromatogr. B. 2009. V. 877. P. 2363.

34. *Peters R.J.B., Bolck Y.J.C., Rutgers P., Stolker A.A.M., Nielen M.W.F.* Multi-residue screening of veterinary drugs in egg, fish and meat using high-resolution liquid chromatography accurate mass time-of-flight mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2009. V. 1216. P. 8206.

35. *Amelin V., Korotkov A., Andoralov A.* Identification and determination of 492 contaminants of different classes in food and feed by high-resolution mass spectrometry using the standard addition method // J. AOAC Int. 2016. V. 99. № 6. P. 1600.

36. *Zhang Y., Li X., Liu X., Zhang J., Cao Y., Shi Z., Sun H.* Multi-class, multi-residue analysis of trace veterinary drugs in milk by rapid screening and quantification using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry // J. Dairy. Sci. 2015. V. 98. P. 8433.

37. *Kaufmann A., Butcher P., Maden K., Walker S., Widmer M.* Development of an improved high resolution mass spectrometry based multi-residue method for veterinary drugs in various food matrices // Anal. Chim. Acta. 2011. V. 700. P. 86.

38. *Gómez-Pérez M.L, Plaza-Bolaños P., Romero-González R., Martínez-Vidal J.L., Garrido-Frenich A.* Comprehensive qualitative and quantitative determination of pesticides and veterinary drugs in honey using liquid chromatography-Orbitrap high resolution mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2012. V. 1248. P. 130.

39. *Stickle D.F., Garg U.* Chapter 4 – Validation, quality control, and compliance practice for mass spectrometry assays in the clinical laboratory / Mass Spectrometry for the Clinical Laboratory / Eds. Nair H., Clarke W. Academic Press, 2017. P. 63.

40. *Goscinny S., Unterluggauer H., Aldrian J., Masselter S.* Determination of glyphosate and its metabolite AMPA (aminomethylphosphonic acid) in cereals after derivatization by isotope dilution and UPLC–MS/MS // Food Anal. Methods. 2012. V. 5. P. 1177.

41. *Амелин В.Г., Большаков Д.С., Подколзин И.В.* Быстрый скрининг и определение остаточных количеств β-лактамных антибиотиков в пищевых продуктах методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии–квадруполь-времяпролетной масс-спектрометрии высокого разрешения // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 9. С. 806.

*ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ, 2024, том 79, № 3, с. 263–271*

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

*УДК 543.421*

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ Cr И Ni В МОРСКОЙ ВОДЕ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОТЕРМИЧЕСКОЙ АТОМНО-АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ С ИСТОЧНИКОМ СПЛОШНОГО СПЕКТРА

**© 2024 г. М. Ю. Бурылин[a], Е. С. Копейко[a, *], Е. С. Костюченко[a]**

*[a] Кубанский государственный университет*
*ул. Ставропольская, 149, Краснодар, 350040, Россия*
** E-mail: kopeikoelena@yandex.ru*

Поступила в редакцию 28.04.2023 г.
После доработки 02.06.2023 г.
Принята к публикации 09.06.2023 г.

Разработаны условия определения Ni и Cr в морской воде методом электротермической атомно-абсорбционной спектрометрии высокого разрешения с источником сплошного спектра (**ВР-ИСС ЭТААС**). Азотная кислота использована в качестве химического модификатора. Проведено сравнение аналитических возможностей данного варианта метода с вариантом электротермической атомно-абсорбционной спектрометрии низкого разрешения с линейчатыми источниками излучения (**НР-СИС ЭТААС**) и дейтериевой коррекцией фона. Градуировочная зависимость построена по стандартным растворам аналитов. Методики определения Cr и Ni апробированы на образцах воды Черного моря по методу введено–найдено. С использованием варианта ВР-ИСС ЭТААС достигнуты пределы обнаружения (мкг/л): 0.12 для Cr и 0.09 для Ni (дозировка 80 мкл). Для метода НР-СИС ЭТААС эти показатели хуже: 0.6 мкг/л (Cr) и 1 мкг/л (Ni) при дозируемом объеме пробы морской воды 10 мкл. Показана возможность применения метода ЭТААС для прямого определения содержаний Cr и Ni в морской воде на уровне на два порядка ниже предельно допустимых концентраций.

**Ключевые слова:** никель, хром, морская вода, атомно-абсорбционная спектрометрия высокого разрешения.

**DOI:** 10.31857/S0044450224030064, **EDN:** vqevan

Хром и никель относятся к числу “олигоэлементов” [1], которые влияют на живые организмы, в том числе и морские. Источниками поступления хрома и никеля в природные воды являются отходы и сточные воды металлургии, производства кож, красок, пигментов [2, 3]. Загрязнения металлами вносят затонувшие в морях и океанах корабли [4]. Таким образом, эти элементы могут поступать в живые организмы из воздуха, почвы, с питьевой водой, из пищевых продуктов, включая морепродукты [1, 5, 6].

В незагрязненных морских водах невозможно напрямую определить Cr и Ni спектроскопическими методами, так как уровень содержаний составляет менее $n\times10^{-2}$ мкг/л [7, 8]; требуется предварительное концентрирование аналитов.

Предельно допустимые концентрации Cr и Ni в морских водах, регламентируемые Всемирной организацией здравоохранения, составляют 20 и 100 мкг/л соответственно [9]. Превышение этих значений губительно воздействует на дыхательные органы и кровеносную систему рыб [10]. Для прямого определения элементов на таком уровне можно применять спектроскопические методы [9, 11] – масс-спектрометрию и атомно-эмиссионную спектрометрию с индуктивно связанной плазмой (**МС-ИСП** и **АЭС-ИСП**), электротермическую атомно-абсорбционную спектрометрию (**ЭТААС**). При этом всегда проявляются помехи, связанные с большим содержанием (более 30 г/л [12]) неорганических солей в морской воде (хлориды и сульфаты натрия, магния, кальция и калия). Присутствие в электротермическом атомизаторе больших масс солевой матрицы таких проб обусловливает чрезвычайно высокий уровень фонового поглощения, которое во многих случаях не может быть корректно учтено существующими системами коррекции

фона. Другая причина регистрации ошибочных результатов – это различия в чувствительности атомно-абсорбционных измерений при дозировании градуировочного раствора аналита и анализируемого раствора, содержащего матрицу. В этом случае для градуировки традиционно применяют метод добавок или способ дополнительного градуирования [13]. Для устранения перечисленных влияний, например при определениях методом ЭТААС, применяют химические модификаторы [13, 14–16], оптимизацию температурно-временной программы атомизатора [17, 18], многократное дозирование анализируемой пробы [19] и процедуры предварительного отделения определяемых элементов [20]. Так, при использовании азотной и щавелевой кислот [17] для определения хрома достигнут предел обнаружения 0.042 мкг/л. С применением химической модификации $Pd(NO_3)_2$ и многократного дозирования предел обнаружения никеля составил 0.1 мкг/л для дозируемого объема пробы 200 мкл [19].

Для усовершенствования метода атомно-абсорбционной спектрометрии разработаны спектрометры высокого разрешения с источником сплошного спектра (**ВР-ИСС ЭТААС**), позволяющие наблюдать спектральное окружение выбранной аналитической линии и оснащенные наиболее современной системой коррекции фона. При этом регистрация сигналов осуществляется твердотельными полупроводниковыми детекторами с разрешением порядка 2 пм. Модернизирована также конструкция электротермического атомизатора [21] – использовано боковое относительно графитовой трубки расположение нагревательных электродов. Описано применение спектрометров высокого разрешения (серии contrAA) для определения в морской воде Cu [22, 23], Al [24], Mn [23]. Кроме того, метод ВР-ИСС ЭТААС в сочетании с предварительным концентрированием использован для определения ряда аналитов. Пределы обнаружения составили (мкг/л): 0.005 (Bi) [25], 0.004 (Fe) и 0.0005 (Zn) [26], 0.001 (Cd) и 0.03 (Pb) [27]. Данные о применении ЭТААС высокого разрешения с источником сплошного спектра для определения Cr и Ni в морской воде на сегодняшний день отсутствуют.

Цель настоящей работы состояла в разработке условий определения Cr и Ni в морской воде методом ВР-ИСС ЭТААС и сопоставлении аналитических характеристик двух вариантов метода ЭТААС – высокого разрешения с источником сплошного спектра и низкого разрешения с селективными источниками спектра (**НР-СИС**) – при определении Cr и Ni в морской воде.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Использовали атомно-абсорбционный спектрометр “contrAA800” высокого разрешения с источником сплошного спектра (ксеноновая лампа высокого давления) с боковым расположением нагревающих электродов; автодозатор AS-GF, графитовые трубками с пиропокрытием (все Analytic Jena, Германия). Выбраны наиболее чувствительные аналитические линии 357.869 нм (Cr) и 232.003 нм (Ni) [28]. Абсорбцию обоих аналитов регистрировали набором пикселей CP ± 3 (CP – центральный пиксель). Данный параметр выбрали в соответствии с рекомендациями [28], а также по результатам собственных измерений, показавших наилучшую чувствительность определений и наибольший линейный диапазон градуировочной зависимости при таком наборе детекторов.

Сопоставили аналитические возможности вариантов ВР-ИСС ЭТААС и НР-СИС ЭТААС. Последний представлен спектрометром AA-6800 с дейтериевой коррекцией неселективного поглощения, блоком электротермической атомизации GFA-EX7 с торцевым расположением нагревающих электродов, автодозатором ASC6100 (все Shimadzu, Япония) и графитовыми трубками с пиропокрытием (VEB Elektrokohle Lichtenberg, Германия). Использовали линейчатые источники излучения – лампы с полым катодом из Cr и Ni (Shimadzu, Япония). Режимы работы спектрометра: (длина волны, нм/ширина щели, нм/ток лампы, мА): Cr – 357.9/0.2/8; Ni – 232.0/0.2/10.

Типичные режимы блоков электротермической атомизации (для обеих схем ЭТААС) представлены в табл. 1. Дозируемый объем составлял 10 и 20 мкл. В качестве защитного газа использовали аргон повышенной чистоты (ЗАО “Кубаньтехгаз”, Россия, объемная доля аргона – не менее 99.998%). Измеряемый аналитический сигнал: абсорбция и интегральная абсорбция.

Определение хрома проводили, основываясь на рекомендациях для электротермического атомно-абсорбционного определения общего хрома в природных водах [29]. В указанной методике отобранные пробы воды без видимой взвеси или осадка подкисляют азотной кислотой.

Рабочие растворы Cr и Ni готовили разбавлением стандартных растворов Cr(VI) и Ni(II) с концентрацией аналитов 1 г/л (ВНИИМ им.

**Таблица 1.** Программа работы электротермического атомизатора

| Стадия | Время, с | Температура, °С | Скорость нагрева, °С/с | Скорость защитного газа, л/мин |
|---|---|---|---|---|
| Сушка | 40 | 105 | 5 | 0.5* / max** |
| Пиролиз | 40 | Оптимизирована | 100 | 0.2* / max** |
| Атомизация | 4 | Оптимизирована | 1500 | 0* / stop** |
| Очистка | 4 | 2600 | 500 | 1.5* / max** |

* Для спектрометра AA-6800, ** для спектрометра ContrAA800.

Д.И. Менделеева, Россия) 1 или 2%-ной (по объему) $HNO_3$ в бидистиллированной воде в день их использования. При изучении влияния матрицы морской воды на аналитические сигналы элементов для приготовления модельных растворов использовали образец незагрязненной воды, отобранной с поверхностного слоя Черного моря в районе г. Туапсе.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследовали влияние матрицы морской воды на атомную абсорбцию Cr и Ni при использовании обоих вариантов метода ЭТААС. Для этого на первом этапе определяли оптимальные значения температур стадий пиролиза и атомизации Cr и Ni при дозировании стандартных растворов элементов. Результаты измерений показали одинаковые для вариантов ЭТААС высокого и низкого разрешения значения температур (рис. 1): пиролиз при 1300 °С (Cr) и 1000 °С (Ni); атомизация при 2400 °С (Cr) и 2300 °С (Ni). Значение стандартного отклонения при пяти параллельных измерениях интегральной абсорбции фоновых растворов (бидистиллированная вода с добавкой азотной кислоты) составило менее 0.001 с (измерение интегральной абсорбции)

По результатам измерений абсорбции аналитов при дозировании морской воды, в которой Cr и Ni напрямую не определяются методом ЭТААС, откорректировали температурные режимы стадий пиролиза и атомизации. Они должны обеспечить исключение влияния фонового сигнала (провал селективной абсорбции в отрицательную область или формирование абсорбции аналитов за счет нескомпенсированного фонового поглощения) и регистрацию нулевых значений селективной абсорбции. В растворы исследуемой морской воды перед дозированием дополнительно вводили азотную кислоту до концентрации 1 об. % при определении Cr и 2 об. % при определении Ni. При измерениях по варианту ВР-ИСС зарегистрировали практически нулевые значения интегральной абсорбции для обоих элементов (значения

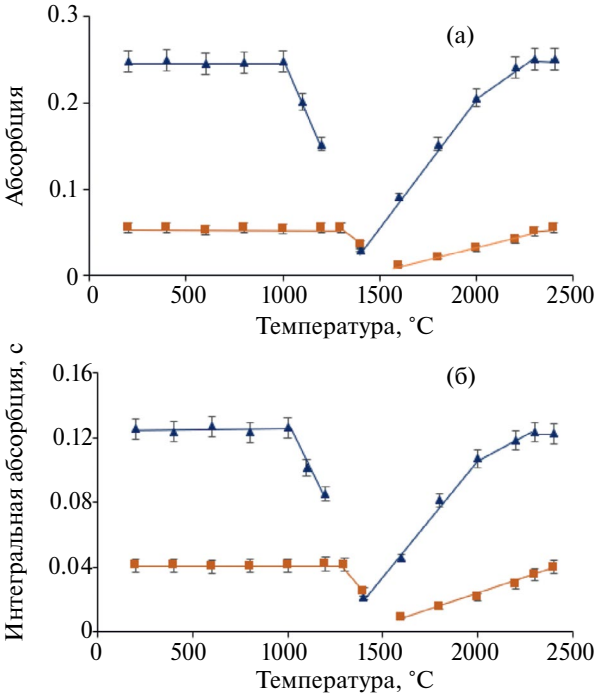


**Рис. 1.** Зависимости аналитических сигналов Ni (▲) и Cr (■) от температуры стадий пиролиза и атомизации: (а) – абсорбция, (б) – интегральная абсорбция.

интегральной абсорбции не более 0.010 с). Для никеля имеет место незначительное фоновое поглощение. Значения стандартного отклонения результатов пяти параллельных измерений интегральной абсорбции матрицы морской воды увеличились до 0.002 с. При измерениях по варианту НР-СИС зарегистрировали нулевые сигналы абсорбции никеля в присутствии 2%-ной (по объему) азотной кислоты. При этом уровень фонового поглощения существенно снизился (рис. 2а, 2б). Значения стандартного отклонения результатов пяти параллельных измерений интегральной абсорбции элементов с дозированием морской воды составили около 0.004 с. Как видно, для обоих вариантов метода ЭТААС в присутствии матрицы морской воды ухудшается повторяемость атомно-абсорбционных измерений в сравнении

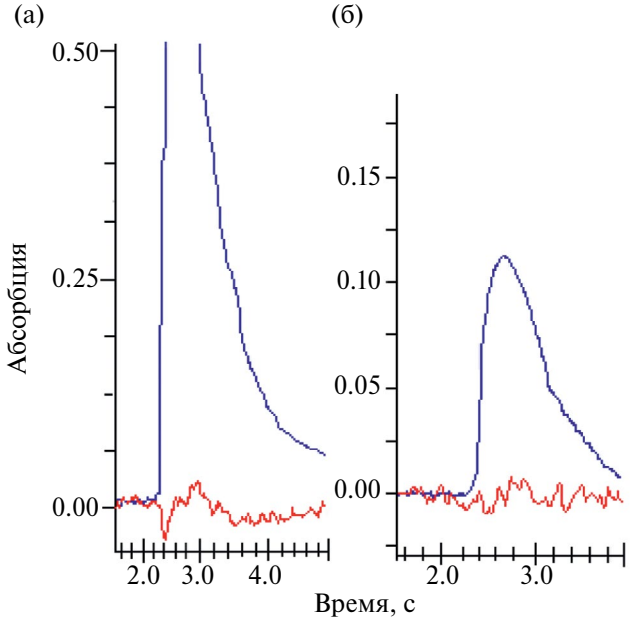


**Рис. 2.** Аналитические сигналы Ni (а) и Cr (б) в присутствии морской воды (дозировка 10 мкл): абсорбция (красный цвет) и фоновый сигнал (синий цвет).

с подкисленными стандартными растворами на основе бидистиллированной воды.

Измеряли атомную абсорбцию аналитов с дозированием растворов на основе морской воды с добавками определяемых элементов (мкг/л): 5 или 10 для Cr, 50 или 20 для Ni. Применили критерий оптимизации режимов программы атомизаторов – совпадение чувствительности определения элементов при дозировании стандартных растворов и растворов на основе матрицы морской воды. Для выполнения этого критерия допустили применение разных температурных режимов на стадиях работы программы атомизатора при определении аналитов в градуировочных растворах и в анализируемых пробах морской воды. Как видно, в варианте ВР-ИСС зарегистрированные значения интегральной абсорбции практически совпадают при дозировании стандартных растворов Cr и Ni и морской воды. Для никеля получили значения 0.109 и 0.107 для стандартного раствора и для морской воды с добавкой аналита (рис. 3), для хрома – 0.212 и 0.211 соответственно (рис. 4). Фоновое поглощение полностью учитывается системой коррекции спектрометра, отсутствуют спектральные наложения соседних линий (рис. 3в, 3г; рис. 4в, 4г). Значения характеристических масс элементов при дозировании стандартных растворов и растворов морской воды с добавками аналитов совпадают (пг): для Ni 8 для Cr 2. Такое совпадение достигнуто только при измерении значений интегральной абсорбции. В дальнейшем при использовании варианта ВР-ИСС всегда измеряли интегральную абсорбцию.

Метод НР-СИС также позволил провести прямое определение добавок Ni и Cr в морской воде. Для выравнивания чувствительности атомно-абсорбционных измерений с дозированием стандартных растворов элементов и растворов морской воды с добавками аналитов необходимо повысить значения температур стадий пиролиза на 100 °С для хрома (рис. 5е, 5ж) и на 200 °С для никеля (рис. 5а, 5в). Таким образом, фоновое поглощение удалось скорректировать. При регистрации амплитуды абсорбции достигнута лучшая чувствительность атомно-абсорбционных измерений, как это рекомендовано производителем оборудования [30]. Значения характеристических масс составили для Ni 9 пг, для Cr 6 пг как при дозировании стандартного раствора, так и морской воды с добавкой аналита.

В последующих исследованиях использовали режимы работы электротермического атомизатора, которые предусматривают разные значения температур стадий пиролиза при дозировке градуировочных растворов и проб.

Для обоснования способа градуировки построили зависимости абсорбции от концентрации аналитов по стандартным растворам и по растворам морской воды с добавками определяемых элементов. Используемые для определения элементов температуры стадий пиролиза приведены в табл. 2.

Сравнение коэффициентов регрессий полученных уравнений градуировочных зависимостей (табл. 3) показало, что для варианта ВР-ИСС они различаются не более чем на 2.5 отн. %. При использовании варианта НР-СИС наклоны графиков отличаются на 13 отн. % для хрома и на 10 отн. % для никеля. Таким образом, можно сделать вывод о возможности использования серии стандартных растворов элементов на основе бидистиллированной воды с добавкой азотной кислоты для определения Cr и Ni в морской воде. Погрешности определения меньше в 4–5 раз при применении варианта ВР-ИСС ЭТААС.

Оптимизированные параметры температурно-временной программы апробировали при анализе образца морской воды Черного моря по методу введено–найдено. В исходной незагрязненной пробе морской воды не удалось зарегистрировать значимые аналитические сигналы Cr и Ni. Результаты определения аналитов в искусственно загрязненной пробе морской воды показали удовлетворительное совпадение значений найденных

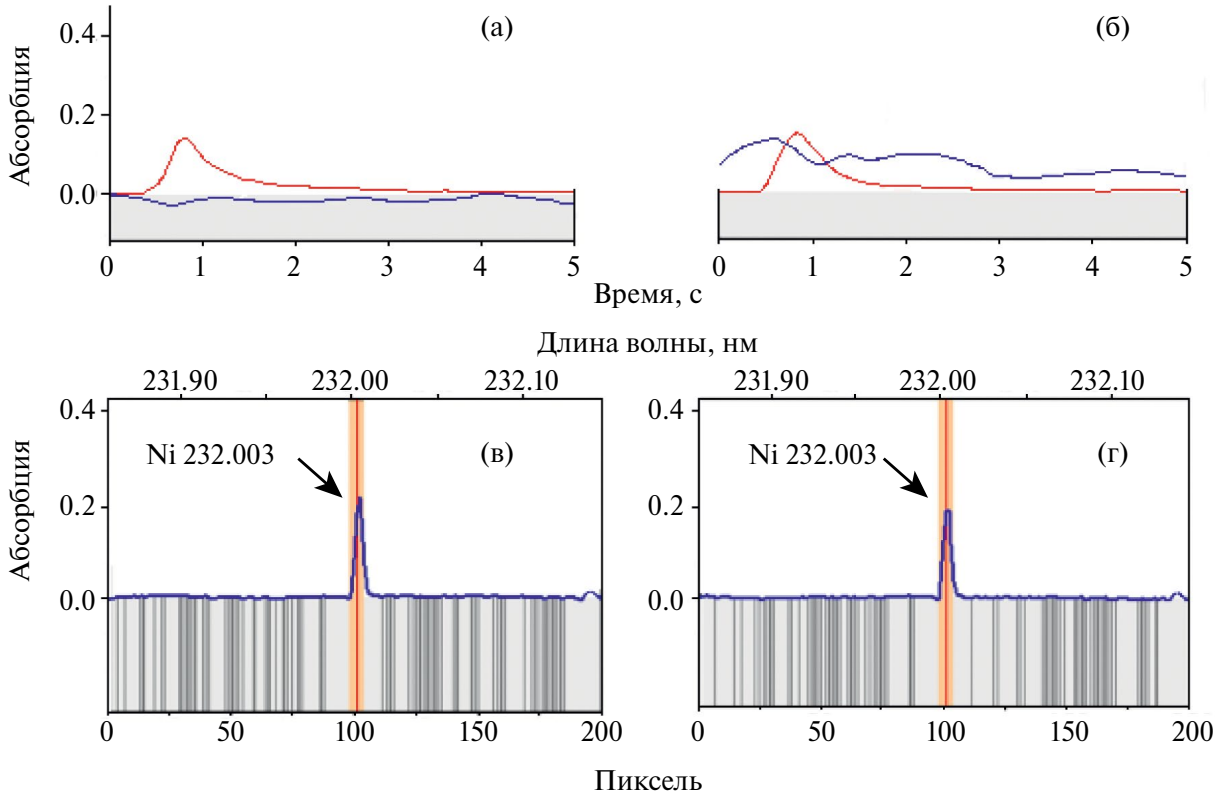


**Рис. 3.** Аналитический сигнал никеля: (а), (в) – стандартный раствор с концентрацией 10 мкг/л; (б), (г) – морская вода с добавкой 10 мкг/л аналита; дозировка 20 мкл. Абсорбция (красный цвет) и фоновый сигнал (синий цвет).

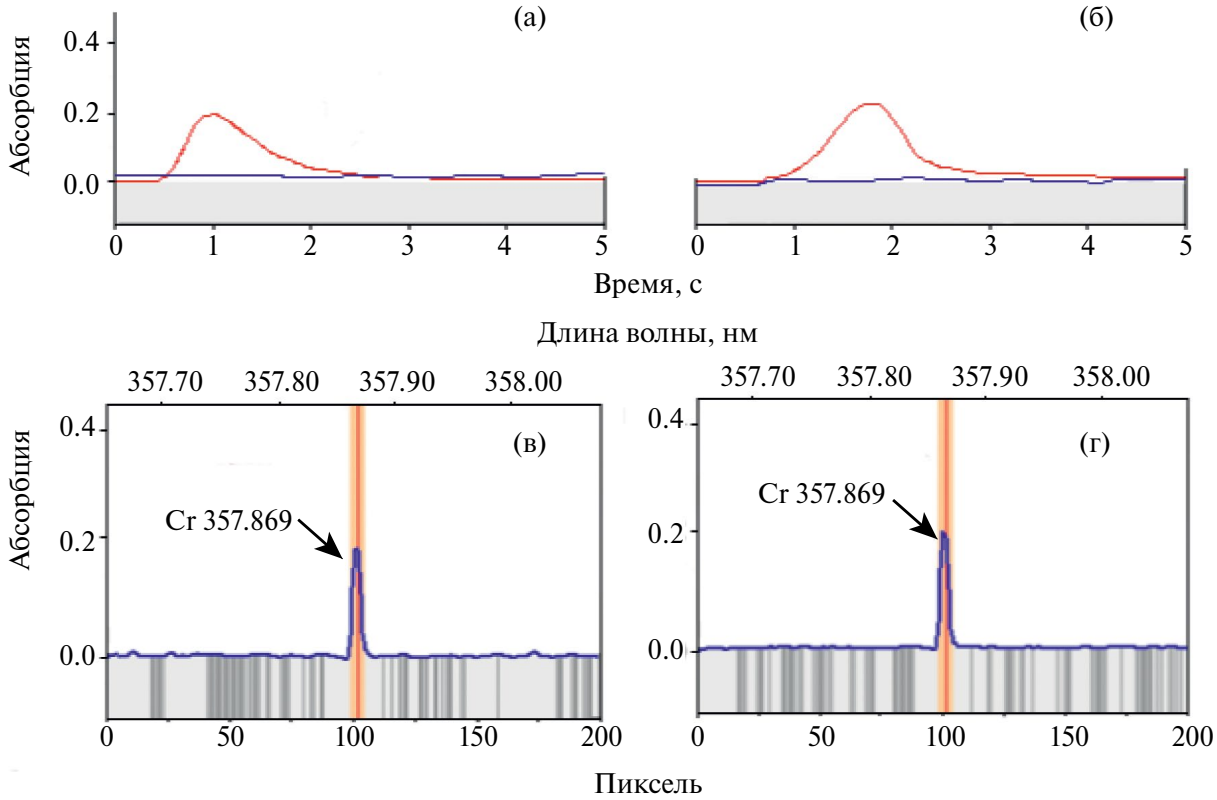


**Рис. 4.** Аналитический сигнал хрома: (а), (в) – стандартный раствор с концентрацией 10 мкг/л; (б), (г) – морская вода с добавкой 10 мкг/л аналита; дозировка 10 мкл. Абсорбция (красный цвет) и фоновый сигнал (синий цвет).

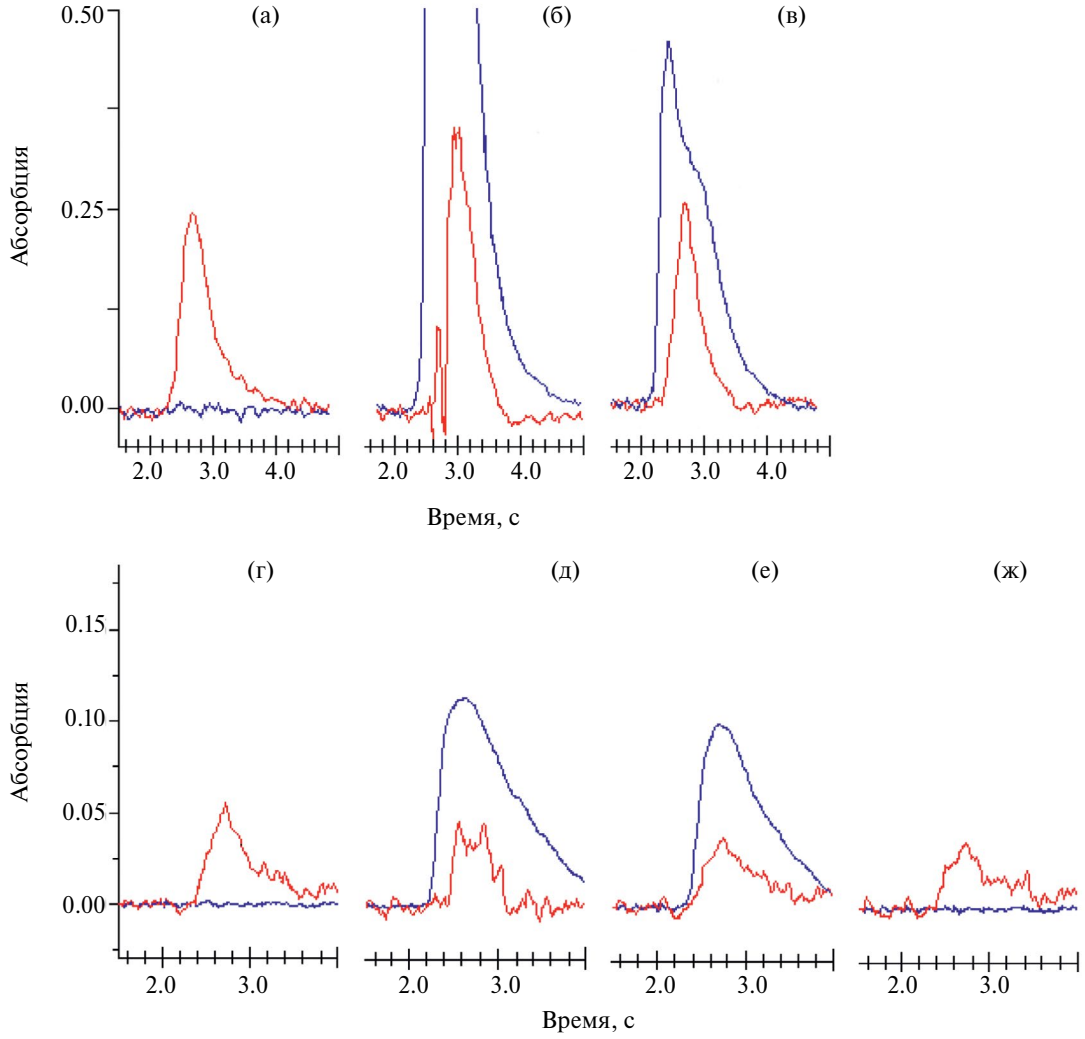


**Рис. 5.** Аналитические сигналы никеля ((а) – стандартный раствор с концентрацией 50 мкг/л, $t_{пир}$ = 1000 °С; (б) – морская вода с добавкой 50 мкг/л аналита, $t_{пир}$ = 1000 °С; (в) – морская вода с добавкой 50 мкг/л, $t_{пир}$ = 1200 °С) и хрома ((г) – стандартный раствор с концентрацией 5 мкг/л, $t_{пир}$ = 1300 °С; (д) – морская вода с добавкой 5 мкг/л аналита, $t_{пир}$ = 1300 °С; (е) – морская вода с добавкой 5 мкг/л аналита, $t_{пир}$ = 1400 °С; (ж) – стандартный раствор с концентрацией 5 мкг/л, $t_{пир}$ = 1400 °С): абсорбция (красный цвет) и фоновый сигнал (синий цвет), дозировка всегда 10 мкл.

**Таблица 2.** Оптимальные температуры стадий пиролиза для определения элементов

| Метод | Температура стадии при дозировании, °С | |
|---|---|---|
| | стандартных растворов | растворов морской воды с добавкой аналита |
| Высокое разрешение с источником сплошного спектра | 1300 – определение Cr<br>1000 – определение Ni | |
| Низкое разрешение с селективными источниками спектра | 1400 – определение Cr<br>1000 – определение Ni | 1400 – определение Cr<br>1200 – определение Ni |

и введенных концентраций (табл. 4). Достигнутые уровни нижней границы определяемых концентраций при использовании варианта ВР-ИСС ЭТААС существенно ниже, чем для варианта НР-СИС (табл. 5). Этому способствует более высокая повторяемость параллельных измерений (меньшие значения стандартного отклонения результатов параллельных измерений абсорбции).

Для снижения предела обнаружения никеля применили многократное дозирование пробы морской воды [19]. Значение дозируемого объема можно увеличить до 80 мкл. Такой прием

**Таблица 3.** Параметры градуировочных зависимостей при определении Cr и Ni

| Элемент | Коэффициент регрессии для градуировочной зависимости | |
|---|---|---|
| | построена по стандартным растворам | построена по растворам морской воды с добавкой аналита |
| Высокое разрешение с источником сплошного спектра | | |
| Cr | 0.0162 | 0.0158 |
| Ni | 0.0117 | 0.0115 |
| Низкое разрешение с селективными источниками спектра | | |
| Cr | 0.0055 | 0.0062 |
| Ni | 0.0029 | 0.0026 |

**Таблица 4.** Результаты определения Cr и Ni в морской воде по методу введено–найдено ($n = 5$, $P = 0.95$)

| Метод | Элемент | Введено, мкг/л | Найдено, мкг/л | Аналитический выход, % |
|---|---|---|---|---|
| Низкое разрешение с селективными источниками спектра | Cr | 7 | 6.5 ± 0.8 | 93 ± 11 |
| | | 15 | 13.3 ± 1.6 | 89 ± 11 |
| | Ni | 15 | 13.8 ± 1.5 | 92 ± 10 |
| | | 40 | 38 ± 4 | 95 ± 10 |
| Высокое разрешение с источником сплошного спектра | Cr | 7 | 6.7 ± 0.6 | 96 ± 9 |
| | | 15 | 14.2 ± 1.5 | 95 ± 10 |
| | Ni | 3 | 2.9 ± 0.3 | 97 ± 11 |
| | | 30 | 28.3 ± 3.4 | 94 ± 12 |

**Таблица 5.** Аналитические характеристики результатов определения Cr и Ni в морской воде ($n = 5$, $P = 0.95$)

| Метод | Элемент | Линейный диапазон, мкг/л | Предел определения, мкг/л |
|---|---|---|---|
| Низкое разрешение с селективными источниками спектра | Cr | 2–20 | 0.6* |
| | Ni | 3–120 | 1* |
| Высокое разрешение с источником сплошного спектра | Cr | 0.5–25 | 0.12* |
| | Ni | 1–50 | 0.29**, 0.09*** |

* Объем дозировки 10 мкл, ** объем дозировки 20 мкл, *** объем дозировки 80 мкл.

позволил понизить предел обнаружения элемента до 0.09 мкг/л. При определении хрома в морской воде максимально допустимый дозируемый в графитовую трубку объем пробы не превышает 10 мкл. Дальнейшее увеличение объема дозировки не приводит к пропорциональному увеличению измеряемых значений абсорбции.

* * *

Таким образом, сопоставлены аналитические возможности двух вариантов метода ЭТААС – высокого разрешения с источником сплошного спектра и низкого разрешения с селективными источниками спектра. Метод ЭТААС может быть успешно применен для оценки безопасности морских вод, так как обеспечивает приемлемую чувствительность прямого определения элементов – более чем на два порядка ниже значений предельно допустимых концентраций. Заметное преимущество по пределам обнаружения элементов имеет вариант ВР-ИСС ЭТААС. При определении хрома достигнуто меньшее в сравнении с вариантом НР-СИС значение характеристической массы. Кроме того, измерения интегральной абсорбции характеризуются намного более высокой повторяемостью результатов измерений (вариант ВР-ИСС). Несмотря на высокое содержание солевой матрицы, возможно выполнять атомно-абсорбционные измерения с использованием варианта ЭТААС низкого разрешения с селективными источниками спектра и наименее эффективной дейтериевой коррекцией фона. Некорректируемые спектральные наложения

на атомные линии поглощения Cr и Ni от матрицы морской воды при этом не зафиксированы.

Применение подхода выравнивания чувствительности ЭТААС-измерений при дозировании стандартных растворов и проб морской воды позволяет использовать стандартные растворы элементов для определения аналитов, что значительно упрощает процедуру анализа. Это достигнуто за счет использования различных температур стадии пиролиза при дозировании стандартных растворов и анализируемых проб морской воды. По-видимому, дальнейшее снижение нижней границы определяемых концентраций элементов в морских водах методом ЭТААС возможно только с применением процедур концентрирования. Увеличение объема дозировки как способ снижения уровня определяемых концентраций оказалось успешным только при определении никеля по варианту ВР-ИСС. Максимально допустимый объем дозирования составил 80 мкл.

*Исследования проводили в рамках выполнения гранта РНФ (№ 23-23-00019) с использованием научного оборудования ЦКП "Эколого-аналитический центр" Кубанского госуниверситета.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Amais R., Ribeiro. J., Segatelli M., Yoshida I., Luccas P., Tarley C.* Assessment of nanocomposite alumina supported on multi-wall carbon nanotubes as sorbent for on-line nickel preconcentration in water samples // Sep. Purif. Technol. 2007. V. 58. № . 1. P. 122. https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.07.024
2. *Padarauskas A.V., Kazlauskiene L.G.* Ion-pair chromatographic determination of chromium (VI) // Talanta. 1993. V. 40. № . 6. P. 827. https://doi.org/10.1016/0039-9140(93)80037-r
3. *Pretty J.R., Blubaugh E.A., Caruso J.A., Davidson T.M.* Determination of chromium (VI) and vanadium (V) using an online anodic stripping voltammetry flow cell with detection by inductively coupled plasma mass spectrometry // Anal. Chem. 1994. V. 66. № . 9. P. 1540. https://doi.org/10.1021/ac00081a029
4. *Van Landuyt J., Kundu K., Van Haelst S., Neyts M., Parmentier K., De Rijcke M., Boon N.* 80 years later: Marine sediments still influenced by an old war ship // Front. Mar. Sci. 2022. P. 1973. https://doi.org/10.3389/fmars.2022.1017136
5. *Özzeybek G., Alacakoç B., Kocabaş M.Y., Bakırdere E.G., Chormey D.S., Bakırdere S.* Trace determination of nickel in water samples by slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry after dispersive assisted simultaneous complexation and extraction strategy // Environ. Monit. Assess. 2018. V. 190. № . 9. P. 1. https://doi.org/10.1007/s10661-018-6884-z
6. *Tuzen M., Saygi K.O., Soylak M.* Solid phase extraction of heavy metal ions in environmental samples on multiwalled carbon nanotubes // J. Hazard. Mater. 2008. V. 152. № . 2. P. 632. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.07.026
7. *Otero-Romaní J., Moreda-Piñeiro A., Bermejo-Barrera P., Martin-Esteban A.* Synthesis, characterization and evaluation of ionic-imprinted polymers for solid-phase extraction of nickel from seawater // Anal. Chim. Acta. 2008. V. 630. № . 1. P. 1. https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.09.049
8. *López-García I., Briceño M., Vicente-Martínez Y., Hernández-Córdoba M.* Ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction for the speciation of traces of chromium using electrothermal atomic absorption spectrometry // Talanta. 2013. V. 115. P. 166. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.04.052
9. *Baysal A., Akman S.* Assessment of chromium and nickel levels in surface sea waters and sediments from industrial marine area in Tuzla Aydinli Bay, Istanbul Turkey // Mar. Pollut. Bull. 2018. V. 130. P. 293. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.03.033
10. *Sall M.L., Diaw A.K.D., Gningue-Sall D., Efremova Aaron S., Aaron J.-J.* Toxic heavy metals: impact on the environment and human health, and treatment with conducting organic polymers, A review // Environ. Sci. Pollut. Res. 2020. V. 27. № . 24. P. 29927. https://doi.org/10.1007/s11356-020-09354-3
11. *Otero-Romaní J., Moreda-Piñeiro A., Bermejo-Barrera P., Martin-Esteban A.* Inductively coupled plasma–optical emission spectrometry/mass spectrometry for the determination of Cu, Ni, Pb and Zn in seawater after ionic imprinted polymer based solid phase extraction // Talanta. 2009. V. 79. № . 3. P. 723. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.04.066
12. *Huber C., Klimant I., Krause C., Werner T., Mayr T., Wolfbeis O.S.* Optical sensor for seawater salinity // Fresenius J. Anal. Chem. 2000. V. 368. P. 196. https://doi.org/10.1007/s002160000493
13. *Пупышев А.А.* Атомно-абсорбционный спектральный анализ. М.: Техносфера, 2009. С. 617.
14. *Соболев Н.А., Иванченко Н.Л., Кожевников А.Ю.* Прямое определение свинца в морской воде методом атомно-абсорбционной спектроскопии высокого разрешения с использованием смешанного модификатора нитрат бария–фтороводородная кислота // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 5. С. 350. DOI: 10.1134/S0044450219020129 (*Sobolev N.A., Ivanchenko N.L., Kozhevnikov A.Y.* Direct determination of lead in sea water by high-resolution atomic absorption spectroscopy using a mixed modifier barium nitrate–hydrofluoric acid // J. Anal. Chem. 2019. V. 74. № . 5. P. 444). https://doi.org/10.1134/s1061934819020126
15. *Acar O., Türker A.R., Kılıç Z.* Direct determination of bismuth, indium and lead in sea water by Zeeman ETAAS using molybdenum containing chemical

modifiers // Talanta. 1999. V. 49. № . 1. P. 135. https://doi.org/10.1016/s0039-9140(98)00358-0

16. *Acar O.* Determination of cadmium, copper and lead in soils, sediments and sea water samples by ETAAS using a Sc+ Pd+ $NH_4NO_3$ chemical modifier // Talanta. 2005. V. 65. № . 3. P. 672. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.07.035
17. *Cabon J.Y., Le Bihan A.* The determination of Cr, Cu and Mn in seawater with transversely heated graphite furnace atomic absorption spectrometry // Spectrochim. Acta B. 1995. V. 50. № . 13. P. 1703. https://doi.org/10.1134/s106193481902012618.
18. *Cabon J.Y., Giamarchi P., Le Bihan A.* Determination of iron in seawater by electrothermal atomic absorption spectrometry and atomic fluorescence spectrometry: A comparative study // Anal. Chim. Acta. 2010. V. 664. № . 2. P. 114. https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.02.014
19. *Bermejo-Barrera P., Moreda-Pineiro J., Moreda-Pineiro A., Bermejo-Barrera A.* Direct electrothermal atomic absorption spectrometry determination of nickel in sea water using multiple hot injection and Zeeman correction // Talanta. 1998. V. 45. № . 5. P. 807. https://doi.org/10.1016/s0039-9140(97)00159-8
20. *Dadfarnia S., Shakerian F., Shabani A.M.H.* Suspended nanoparticles in surfactant media as a microextraction technique for simultaneous separation and preconcentration of cobalt, nickel and copper ions for electrothermal atomic absorption spectrometry determination // Talanta. 2013. V. 106. P. 150. https://doi.org/10.1016/0584-8547(88)80071-5
21. *De Loos-Vollebregt M.T.C., De Galan L.* Furnace design in electrothermal atomization-atomic absorption spectrometry // Spectrochim. Acta B. 1988. V. 43. № . 4–5. P. 439. https://doi.org/10.1016/0584-8547(88)80071-5
22. *González-Álvarez R.J., Bellido-Milla D., Pinto J.J., Moreno C.* A handling-free methodology for rapid determination of Cu species in seawater based on direct solid micro-samplers analysis by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry // Talanta. 2020. V. 206. Article 120249. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120249
23. *Burylin M.Y., Kopeyko E.S., Bauer V.A.* Determination of Cu and Mn in seawater by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry // Anal. Lett. 2022. V. 55. № . 10. P. 1663. https://doi.org/10.1080/00032719.2021.2020806
24. *Salomon S., Giamarchi P., Le Bihan A., Becker-Rob H., Heitmann U.* Improvements in the determination of nanomolar concentrations of aluminium in seawater by electrothermal atomic absorption spectrometry // Spectrochim. Acta B. 2000. V. 55. № . 8. P. 1337. https://doi.org/10.1016/s0584-8547(00)00240-8
25. *Krawczyk-Coda M.* Halloysite nanotubes as a solid sorbent in ultrasound-assisted dispersive micro solid-phase extraction for the determination of bismuth in water samples using high-resolution continuum source graphite-furnace atomic absorption spectrometry // Spectrochim. Acta B. 2017. V. 129. P. 21. https://doi.org/10.1016/j.sab.2017.01.003
26. *Krawczyk M., Jeszka-Skowron M., Matusiewicz H.* Sequential multi-element determination of iron and zinc in water samples by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry after column solid-phase extraction onto multiwalled carbon nanotubes // Microchem. J. 2014. V. 117. P. 138. https://doi.org/10.1016/j.microc.2014.06.023
27. *Krawczyk M., Jeszka-Skowron M.* Multiwalled carbon nanotubes as solid sorbent in dispersive micro solid-phase extraction for the sequential determination of cadmium and lead in water samples // Microchem. J. 2016. V. 126. P. 296. https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.12.027
28. *Welz B., Becker-Ross H., Florek S., Heitmann U.* High-Resolution Continuum Source AAS. 2nd Ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, 2005. 295 p. https://doi.org/10.1002/3527606513
29. ISO 9174:1998 Water quality – Determination of chromium – Atomic absorption spectrometric methods. Switzerland: International Organization for Standardization. 70 p.
30. https://dokumen.tips/documents/aa-6800-6650imverfocr/ (15.12.2022).

*ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ, 2024, том 79, № 3, с. 272–279*

ПРЕПОДАВАНИЕ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

*УДК 543*

# ПРАКТИКУМ ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ ДЛЯ СТУДЕНТОВ-ПРОВИЗОРОВ ФАКУЛЬТЕТА ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ МГУ ИМЕНИ М. В. ЛОМОНОСОВА: НОВЫЕ ПОДХОДЫ И ЗАДАЧИ

**© 2024 г. О. В. Моногарова[a, *]**

*[a] Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет*
*Ленинские горы, 1, стр. 3, ГСП-1, Москва, 119991, Россия*
** E-mail: o_monogarova@mail.ru*

Поступила в редакцию 18.04.2023 г.
После доработки 30.05.2023 г.
Принята к публикации 30.05.2023 г.

Обсуждены место и роль аналитической химии в системе фармацевтического образования среди других изучаемых дисциплин при подготовке специалистов-провизоров. Представлена общая структура и идеология практикума, рассмотрена специфика лабораторных работ по аналитической химии для студентов фармацевтической специальности факультета фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Разработаны, апробированы и внедрены в учебный процесс новые задачи для практикума по химическим и инструментальным методам, посвящённые анализу широко распространённых фармацевтических препаратов. Предложенный подход соответствует общей парадигме курса с его ориентацией на дальнейшую профессиональную деятельность учащихся и позволяет повысить интерес студентов к изучаемой дисциплине.

**Ключевые слова:** практикум по аналитической химии, лекарственный препарат, фармацевтическая субстанция, преподавание, фармацевтическая специальность, провизоры, фармацевтический анализ.

**DOI:** 10.31857/S0044450224030071, **EDN:** vqdrcy

## РОЛЬ И МЕСТО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ В СИСТЕМЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ

Объектами классического фармацевтического анализа являются лекарственные субстанции и препараты. Лекарственное вещество, которое употребляет человек, всегда представлено в той или иной лекарственной форме. По консистенции лекарственные формы могут быть (1) твёрдыми (таблетки, драже, капсулы, порошки), (2) жидкими (растворы, настойки, сиропы, капли, суспензии, эмульсии, линименты), (3) мягкими (мази, пасты, гели, суппозитории, кремы) и др. Изучением лекарственных веществ занимаются различные фармацевтические научные направления, такие как фармацевтическая химия, фармацевтическая технология, фармакогнозия, фармакодинамика, фармакокинетика, биофармация и т. п. Все перечисленные фармацевтические науки очень тесно связаны с аналитической химией (рис. 1).

Любой выпускник факультета фундаментальной медицины МГУ, обучающийся по специальность “фармация”, должен уметь проводить мониторинг качества лекарственных средств, что невозможно без химико-аналитической подготовки в период обучения [1]. Обязательной составной частью программы обучения студентов-провизоров являются различные химические дисциплины (фармацевтическая, токсикологическая, органическая, коллоидная, биологическая, физическая, общая и неорганическая химии), среди которых немаловажную роль играет аналитическая химия. Именно аналитическая химия сочетает в себе теоретические (фундаментальные) и прикладные аспекты, является своеобразным “мостиком”, связующим звеном между базовыми химическими науками и профессиональной деятельностью фармацевта.

**Рис. 1.** Связь аналитической химии с фармацевтическими науками.

Выполнение качественного и количественного анализа химическими и инструментальными методами необходимо для успешного освоения других специальных дисциплин химического профиля, профессиональные качества студентов-провизоров формируются на основе междисциплинарных навыков, умении решать сложные задачи, которые могут возникнуть при выполнении работы будущим специалистом в области фармации.

При анализе лекарственных препаратов, химики-аналитики решают несколько задач: (1) качественный анализ, определение (2) действующих веществ, (3) остаточных растворителей, (4) вспомогательных веществ, (5) посторонних примесей (рис. 2). С-указанными задачами успешно справляются как химические, так и физико-химические (инструментальные) методы аналитической химии.

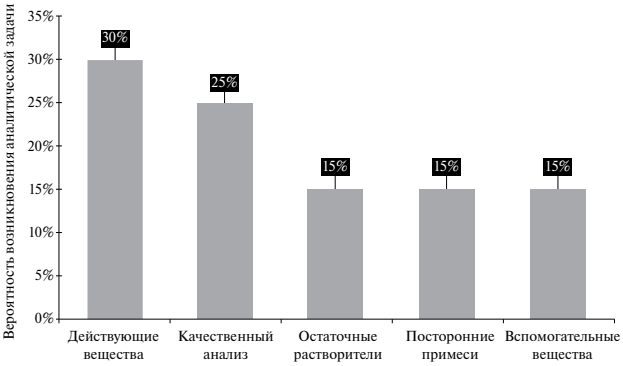


**Рис. 2.** Аналитические задачи фармацевтических дисциплин.

## АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ ДЛЯ СТУДЕНТОВ-ПРОВИЗОРОВ. ОСОБЕННОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

Общий курс аналитической химии студенты-провизоры второго года обучения изучают в течение двух семестров. Учебный план формируют лекции, семинары и лабораторные работы [2].

Практикум по аналитической химии подразделяется на несколько этапов: (1) качественный химический анализ; (2) количественный анализ классическими химическими методами; (3) количественный анализ инструментальными методами [3]. Можно долго дискутировать на тему практикума: каково его истинное назначение, цели и задачи, какую пользу из него извлекают студенты?

Традиционно практикум строится на выполнении студентом базовых лабораторных работ, посвящённых анализу модельных систем (чаще всего растворов) соответствующими химическими или инструментальными методами. Какова его цель? Научить студентов “работать руками”: аккуратно готовить растворы, обращаться с мерной посудой, титровать, взвешивать, проводить измерения на специализированном аналитическом оборудовании и т. п., и, в конечном счете, получать правильные результаты анализа. Почему в этом случае целесообразно работать с модельными системами? Во-первых, отсутствует мешающее влияние посторонних компонентов пробы, что облегчает студенческую задачу; во-вторых, у преподавателя есть возможность

проверить, насколько хорошо работает студент и, естественно, оценить его работу. Всё логично и не вызывает сомнений, так и должно быть. А если попробовать взглянуть на это с другой стороны?

Задача преподавателя не только научить чему-то, но и пробудить интерес студента к изучаемой дисциплине. Студент может идеально выполнять ту или иную работу, получать правильные результаты, но если всё это ему совершенно не интересно, поскольку он не понимает, как полученные знания и навык могут пригодиться ему в будущей профессиональной деятельности, то он так же легко забудет всё то, чему так легко научился. И практикум будет ассоциироваться у него лишь с нудной рутинной и необходимой (на момент выполнения!) работой. Какой уж тут положительный аспект обучения...

А если попробовать по-другому? Вместо модельного раствора предложить студенту-провизору реальный объект – лекарственный препарат, тот "родной" объект анализа, с которым будет связана его работа на протяжении дальнейшей профессиональной деятельности? Нет сомнений, что это заинтересует будущего фармспециалиста. Только не всё так просто, как кажется. При внедрении таких объектов в аналитический практикум возникает ряд проблем и вопросов.

**Вопрос № 1. Как за время практикума успеть выполнить длительную работу, связанную с пробоподготовкой препаратов в различных лекарственных формах?**

Действительно, анализ аптечных препаратов в некоторых лекарственных формах требует длительной пробоподготовки. На этапе предварительных испытаний лекарственных средств традиционно проводят типичные фармакопейные тесты, например органолептические пробы. При этом обращают внимание на внешний вид образца, запах, цвет, иногда вкус. Следующая стадия – физико-химические пробы: определение размера частиц порошков, растворимости, температуры плавления, вязкости, pH раствора и т. п. [4, 5]. Далее проводят тщательную пробоподготовку объектов. В зависимости от консистенции лекарственных форм она осуществляется по-разному. Как решить проблему пробоподготовки, учитывая, что время, отведённое на конкретную лабораторную работу, ограничено одним практикумом?

Из сказанного выше очевидно, что для коротких практических работ в качестве объекта анализа подойдёт далеко не любая лекарственная форма. Мази, кремы, гели, сложные эмульсии, растительное лекарственное сырьё и т. п. подготовить к анализу за одно занятие не удастся. Целесообразно выбирать лекарственные формы, требующие минимальную пробоподготовку с минимальным количеством мешающих компонентов в составе (табл. 1).

**Вопрос № 2. Как проверить правильность результатов, полученных студентом?**

Если в качестве объекта анализа предложить студенту лекарственный препарат, купленный в аптеке, то возникает проблема, связанная с проверкой и оцениванием полученного им результата. Что считать истинным содержанием? Можно ответить – заявленное производителем содержание. Это так,

**Таблица 1.** Экспресс-пробоподготовка некоторых лекарственных форм

| Лекарственная форма | Пробоподготовка в лабораторных условиях | Примечание |
|---|---|---|
| Растворы | В большинстве случаев без дополнительной пробоподготовки, иногда требуется упаривание раствора для концентрирования | Как правило, отсутствуют мешающие компоненты. Самый удобный объект для анализа студентами в практикуме |
| Таблетки, порошки, драже, суспензии | После тщательного растирания в фарфоровой ступке образец растворяют в 6 М соляной кислоте (реже в спирте или других органических растворителях), при необходимости нагревают. Остаток, содержащий вспомогательные компоненты и наполнители, отделяют фильтрованием | При кислотной минерализации действующее вещество переходит в раствор |
| Капсулы | Инкапсулят (твёрдый или жидкий) количественно извлекают из оболочки и растворяют. Для водорастворимых капсул содержимое переводят в раствор вместе с оболочкой (при необходимости отфильтровывают остаток) | В зависимости от вида капсулы, могут использоваться разные растворители |

однако при транспортировке, хранении препарат неоднократно подвергается воздействию внешних факторов, что, безусловно, может отразиться на концентрации аналита в нём: лекарственное вещество поглотило воду, под влиянием света образовались продукты деградации действующего или вспомогательного вещества и т. п. Следовательно, данные от производителя мы считаем оценочными и не можем принять за истинные. Как быть? Решения два: (1) предварительно проанализировать препараты несколькими независимыми методами; (2) в качестве объектов для анализа использовать не аптечный препарат в определённой лекарственной форме, а чистую фармацевтическую субстанцию. Лучшим вариантом будет комбинирование этих двух решений. Таким образом, идеология практикума заключается во внедрении в учебный процесс лабораторных работ, сочетающих анализ модельных систем, фармацевтических субстанций и реальных препаратов (табл. 2).

**Вопрос № 3. Как решить проблему, связанную с ограниченным временем, отведённым на практические занятия в соответствии с образовательной программой?**

В рамках одной группы методов (например, химических) традиционно студенту предлагается выполнить несколько лабораторных работ, причем все, как правило, на примере модельных растворов. В свете рассмотренной парадигмы предлагается применить комбинированный подход, проиллюстрированный в табл. 3. На первых этапах знакомства с методом целесообразно начинать работу в практикуме с анализа модельных растворов, затем переходить к субстанциям и, наконец, к более сложным системам – к лекарственным препаратам. Данный подход можно реализовать в рамках разных, но взаимосвязанных методов, например, в различных вариантах титриметрии (табл. 3) или в разных методах в пределах одного физико-химического блока (спектроскопические, электрохимические, хроматографические методы анализа). Это позволит студентам научиться исследовать как модельные, так и реальные системы, а преподавателю понять, насколько хорошо учащийся освоил экспериментальную работу и умеет решать профессиональные задачи.

## КАЧЕСТВЕННЫЙ ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Осенний семестр студенты-провизоры второго курса начинают с качественного химического анализа. Долгие годы в рамках этого блока учащиеся проводили множество аналитических реакций обнаружения неорганических катионов и анионов, занимались систематическим и дробным анализом искусственной смеси сухих солей, а в заключение выполняли качественный анализ конкретного лекарственного препарата. Шло время, и настало понимание того, что выполнение реакций обнаружения на модельных растворах вне связи с объектом не только отнимает львиную долю времени практикума, но и является нецелесообразным. Во-первых, после проведения многочисленных рутинных реакций в течение нескольких практических занятий у студентов возникает путаница в голове. Во-вторых, реакции обнаружения катионов и анионов в модельных растворах оказываются “оторванными” от конкретного объекта, и к моменту проведения анализа лекарства большинство из них студентам приходится повторять заново. В-третьих, в аптечных лекарственных препаратах, с которыми студентам придётся столкнуться в будущей профессиональной деятельности, можно обнаружить лишь очень ограниченный круг неорганических ионов. В связи с этим в практику качественного анализа внедряется следующий подход: студенты начинают лабораторные занятия с качественного (систематического и дробного) анализа смеси сухих солей (смесь подбирается в соответствии с составами препаратов) и нескольких реальных фармацевтических объектов в различных лекарственных формах, параллельно проводя необходимые

**Таблица 2.** Общая идеология лабораторных работ в практикуме

| Этап | Суть работы | Цель |
|---|---|---|
| 1 | Анализ модельных систем с точно известной концентрацией аналита | Проверка и оценивание работы студента в практикуме |
| 2 | Анализ чистой фармацевтической субстанции | Работа студента с лекарственным средством повышает интерес к изучению курса |
| 3 | Анализ аптечных препаратов в различных лекарственных формах (таблетки, драже, инъекционные растворы, капли, капсулы и т. п.) | Работа студента с реальным препаратом способствует приобретению им профессиональных навыков |

**Таблица 3.** Пример комбинированного подхода при выполнении лабораторных работ студентами-провизорами в практикуме по химическим методам анализа

| Классические химические методы анализа | Лабораторная работа |
|---|---|
| Кислотно-основная титриметрия | Определение соляной кислоты **в модельном** водном растворе |
| Редокс-титриметрия | Перманганатометрическое определение изониазида **в субстанции** |
| Комплексонометрия | Определение сульфата магния **в инъекционном растворе** для внутривенного введения (дополнительная проверка тремя методами!) |
| Осадительная титриметрия | |
| Гравиметрия | |

реакции обнаружения (особое внимание уделяется Фармакопейным реакциям) соответствующих катионов и анионов в модельных растворах. Проводя различные реакции параллельно с анализом реального объекта, студент имеет возможность сравнивать наблюдаемые аналитические признаки, подбирать оптимальные условия, делать грамотные выводы. Такой подход позволяет ответить на излюбленный студенческий вопрос: “Зачем нам выполнять десятки реакций обнаружения ионов с разными аналитическими реагентами (групповыми, селективными, специфическими)?”. Студенты осмысленно выполняют каждый этап анализа, исходя из особенностей искусственной смеси или конкретного лекарственного препарата. При этом большое внимание уделяется селективности и чувствительности используемых реакций. В табл. 4 представлены широко используемые в качественном фармацевтическом анализе лекарственные препараты в рамках изучения дисциплины “Аналитическая химия”. Предложенные для качественного анализа препараты неидеальны: слишком мало неорганических ионов входит в их состав. В ближайшие годы планируется внедрить в практику химического качественного анализа реакции не только на неорганические, но и на органические ионы, наиболее часто встречающиеся в лекарствах.

## ХИМИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА

После проведения качественного химического анализа студенты-провизоры приступают к количественному. Первый блок посвящён анализу препаратов классическими химическими методами – титриметрическим и гравиметрическим. Эти методы относятся к Фармакопейным [6], поэтому им уделяется очень большое внимание в практикуме по аналитической химии со студентами-провизорами. Оба метода применяют для контроля качества лекарственных препаратов

**Таблица 4.** Лекарственные препараты для химического качественного анализа в практикуме по аналитической химии для студентов-провизоров

| Название препарата | Лекарственная форма | Обнаруживаемые ионы |
|---|---|---|
| “Маалокс” | Суспензия, таблетки | $Mg^{2+}$, $Al^{3+}$, $Na^{+}$, цитрат |
| “Алмагель” | Суспензия | $Mg^{2+}$, $Al^{3+}$, $Na^{+}$ |
| “Фосфалюгель” | Гель | $Al^{3+}$, $PO_4^{3-}$, $K^{+}$, $Ca^{2+}$ |
| “Ферроплекс” | Таблетки | $Fe^{2+}$, $SO_4^{2-}$ |
| “Сорбифер Дурулес” | | $Fe^{2+}$, $SO_4^{2-}$, $Mg^{2+}$ |
| “Де-Нол” | | $Bi^{3+}$, $K^{+}$, $Mg^{2+}$ |
| “Кардиомагнил” | | $K^{+}$, $Mg^{2+}$, тартрат |
| “Пиколинат хрома” | | $Cr^{3+}$, $Mg^{2+}$ |
| “Протаргол” | | $Ag^{+}$ |
| Ополаскиватели для полости рта | Раствор | $Na^{+}$, $F^{-}$, $Ca^{2+}$, $Zn^{2+}$, $SO_4^{2-}$, $K^{+}$, $Cl^{-}$, цитрат |
| Сульфат магния | Инъекционные растворы для внутривенного или внутримышечного введения | $Mg^{2+}$, $SO_4^{2-}$ |
| Хлорид кальция | | $Ca^{2+}$, $Cl^{-}$ |
| Хлорид натрия | | $Na^{+}$, $Cl^{-}$ |
| Тиосульфат натрия | | $Na^{+}$, $S_2O_3^{2-}$ |

**Таблица 5.** Примеры лабораторных работ по классическим методам химического анализа в практикуме по аналитической химии для студентов фармацевтической специальности, посвящённые определению лекарственных веществ

| Метод | Название работы |
|---|---|
| Работы, выполнявшиеся студентами-провизорами в практикуме по аналитической химии в 2008–2021 гг. | |
| Кислотно-основная титриметрия | Определение аскорбиновой кислоты в препарате |
| Комплексонометрия | Определение кальция в инъекционном растворе |
| Редокс-титриметрия | Перманганатометрическое определение пероксида водорода в гидроперите |
| Осадительная титриметрия | Определение сульфата цинка в лекарственном препарате |
| Гравиметрия | |
| Лабораторные работы, предложенные в 2022–2023 гг. Находятся на этапе апробации и внедрения в практикум | |
| Кислотно-основная титриметрия | Определение:<br>– борной кислоты в аптечном спиртовом растворе;<br>– тетрабората натрия в аптечном препарате;<br>– ацетилсалициловой кислоты в препарате “Аспирин”;<br>– салициловой кислоты в препарате;<br>– метамизола натрия в препарате “Анальгин” |
| Комплексонометрия | Определение:<br>– железа в препаратах для лечения анемии;<br>– цинка в глазных каплях;<br>– висмута в препарате “Де-Нол” или “Викалин” |
| Редокс-титриметрия | Перманганатометрическое определение изониазида в аптечном препарате;<br>Дихроматометрическое определение железа в препаратах для лечения анемии;<br>Иодато- и броматометрическое определение аскорбиновой кислоты;<br>Иодометрическое определение антипирина;<br>Иодиметрическое определение метамизола натрия |
| Осадительная титриметрия | Определение хлорида натрия (калия, кальция) методом аргентометрии |
| Гравиметрия | Определение хинина гидрохлорида в лекарственном препарате |

и лекарственного растительного сырья [7]. В практикуме в равной степени представлены все четыре группы титриметрических методов и гравиметрия по способу осаждения. В весеннем семестре студенты фармацевтической специальности изучают инструментальные методы анализа. Среди всего многообразия аналитических методов аналогично программе курса у студентов-химиков особое внимание уделяется спектральным, электрохимическим и хроматографическим.

Задачи в практикуме по аналитической химии для студентов фармацевтической специальности постоянно обновляются и совершенствуются. За 15 лет занятий со студентами-провизорами преподавателями курса при поддержке факультета фундаментальной медицины МГУ были разработаны, апробированы и внедрены в учебный процесс десятки новых лабораторных работ, посвященных анализу субстанций и реальных лекарственных препаратов [8, 9]. В табл. 5 и 6 приведен перечень задач, представленных в практикуме по аналитической химии с 2008–2011 гг., а также список новых лабораторных работ (2022–2023 гг.), которые активно внедряются в программу курса и вызывают неподдельный интерес со стороны студентов.

Активно внедряются в практикум небольшие зачётные задачи, посвящённые многокомпонентному анализу аптечных препаратов разными методами, по результатам которых студенты-провизоры могут готовить рефераты и краткие презентации докладов. И этот процесс не заканчивается, а активно развивается и только набирает обороты. Студенты с большим удовольствием и интересом выполняют практические задачи, используют свои профессиональные знания для их решения. А дальше всё это часто переходит в научно-исследовательскую работу [10, 11].

**Таблица 6.** Примеры лабораторных работ по физико-химическим методам анализа в практикуме по аналитической химии для студентов фармацевтической специальности, посвящённые определению лекарственных веществ

| Метод | Название работы |
|---|---|
| Работы, выполнявшиеся студентами-провизорами в практикуме по аналитической химии в 2008–2021 гг. | |
| Спектрофотометрия | Определение дибазола и папаверина гидрохлорида при совместном присутствии способом Фирордта |
| Флуориметрия | Определение рибофлавина в инъекционном растворе |
| Тонкослойная хроматография | Разделение и идентификация аминокислот.<br>Контроль качества таблеток аспирина |
| Высокоэффективная жидкостная хроматография | Определение действующих веществ в лекарственных препаратах нового поколения.<br>Разделение и определение водорастворимых витаминов |
| Лабораторные работы, предложенные в 2022–2023 гг. Находятся на этапе апробации и внедрения в практикум | |
| Эмиссионная фотометрия пламени | Определение калия, натрия и кальция в шипучих таблетках для восстановления электролитного баланса |
| Фотометрия, колориметрия (цифровая цветометрия) | Определение:<br>– ацетилсалициловой кислоты в препарате “Аспирин”;<br>– салициловой кислоты в растворе для наружного применения;<br>– хлорамфеникола в препарате “Левомицетин” |
| Спектрофотометрия | Определение парацетамола и кофеина в препарате “Цитрамон” |
| Флуориметрия | Анализ препаратов на основе антибиотиков тетрациклиновой группы.<br>Определение тиамина в инъекционном растворе |
| Прямая потенциометрия | Определение фторид-ионов в противокариесных препаратах (ополаскивателях для полости рта) |
| Косвенная потенциометрия | Определение борной кислоты в аптечном препарате |
| Амперометрическое титрование | Определение цинка в глазных каплях |

* * *

Таким образом, “фармацевтическая” ориентация практикума по аналитической химии, приобретение студентами-провизорами профессионального навыка (уже на втором курсе!) позволяет более осмысленно осваивать теоретические основы курса аналитической химии. Фактически студенты оказываются заранее подготовленными к прохождению практики в аптеках, фармацевтических организациях и т. п. Они не просто обладают базовыми теоретическими знаниями и навыками экспериментатора, они подготовлены именно профессионально. К новизне предлагаемого подхода к организации практикума по аналитической химии следует отнести, прежде всего, ориентирование лабораторных работ на будущую профессиональную деятельность студентов-провизоров. Для этого в учебный процесс внедрены новые фармацевтические объекты для анализа химическими и инструментальными методами; разработаны, усовершенствованы и апробированы методики новых практических задач. Кроме того, в ближайшем будущем планируется активно использовать созданные в рамках студенческих научно-исследовательских работ простые и доступные установки для экспресс-анализа лекарственных препаратов, которые могут использоваться для внутриаптечного контроля их подлинности.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ВАК 14.04.02. Фармацевтическая химия, фармакогнозия. https://teacode.com/online/vak/p14-04-02.html (15.04.2023).
2. *Моногарова О.В.*, *Каленикова Е.И.* Преподавание аналитической химии студентам фармацевтической специальности факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова // Аналитика. 2021. Т. 11. № 6. С. 492.
3. *Моногарова О.В.* Программа по аналитической химии для студентов II курса факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, специальность “фармация” / Под ред. Смирновой С.В. М.: ООО “МАКС-Пресс”, 2022. 36 с.

4. *Сливкин А.И.*, *Тринеева О.В.*, *Логвинова Е.Е.*, *Чистякова А.С.* Качественный и количественный фармацевтический анализ. Учебное пособие. Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2015. 66 с.
5. *Логинова Н.В.*, *Полозов Г.И.* Введение в фармацевтическую химию. Учебное пособие. Минск, 2004. 249 с.
6. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV издание. 2018.
7. *Зиятдинова Г.К.*, *Варламова Р.М.*, *Медянцева Э.П.* Титриметрические методы в фармацевтическом анализе. Учебное пособие. Казань, 2018. 98 с.
8. *Моногарова О.В.* Аналитическая химия. Практическое руководство для студентов фармацевтической специальности / Под ред. Шеховцовой Т.Н. М.: ООО “МАКС-Пресс”, 2022. 188 с.
9. *Фурлетов А.А.*, *Моногарова О.В.*, *Осколок К.В.* Основы аналитической химии. Практическое руководство по химическим методам анализа реальных объектов / Под ред. Проскурнина М.А. М.: Отдел оперативной печати Фундаментальной библиотеки МГУ, 2022. 45 с.
10. *Oskolok K.V.*, *Shults E.V.*, *Monogarova O.V.*, *Chaplenko A.A.* Optical molecular analysis using office flatbed photo scanner: New approaches and solutions // Talanta. 2018. V. 178. P. 377.
11. *Monogarova O.V.*, *Chaplenko A.A.*, *Oskolok K.V.* Multisensory digital colorimetry to identify and determination of active substances in drugs // Sens. Actuators B: Chem. 2019. V. 299.

*ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ, 2024, том 79, № 3, с. 280–283*



*УДК* 543

# 47-я ГОДИЧНАЯ СЕССИЯ СОВЕТА

**DOI:** 10.31857/S0044450224030087, **EDN:** vpwerx

47-я Годичная сессия совета прошла 26 сентября 2023 г. в пансионате "Орбита" в рамках IV Всероссийской конференции по аналитической спектроскопии с международным участием (Краснодарский край, Туапсинский район, пос. Ольгинка, 25–30 сентября 2023 г.). Программа сессии включила вступительное слово председателя совета академика РАН Ю.А. Золотова (публикуется отдельно), награждение лауреатов премий совета за 2022 г., выступление члена бюро д. х. н. Т.Ю. Русановой с докладом "О достижениях российской аналитической химии в 2022 г." (по материалам отчета совета), доклад зам. председателя совета, член-корр. РАН В.П. Колотова о научно-организационной деятельности совета в 2022–2024 гг., доклад д. х. н., профессора И.Е. Васильевой "Взаимосвязь научных исследований и повседневной практики в аналитической химии: современное состояние".

Ю.А. Золотов вручил диплом лауреату премии совета за 2022 г. в номинации "За существенный вклад в развитие аналитической химии" зав. кафедрой аналитической химии Института химии им. А.М. Бутлерова Казанского (Приволжского) федерального университета д. х. н., профессору Г.А. Евтюгину, награжденному за выдающиеся успехи в развитии электрохимических сенсорных систем и активную работу в Научном совете РАН по аналитической химии. Также дипломы были вручены лауреатам молодежной премии совета к. х. н., сотруднику кафедры аналитической химии Института химии Санкт-Петербургского государственного университета А.С. Почивалову за цикл работ "Микроэкстракционное выделение в фармацевтическом анализе антибактериальных и нестероидных противовоспалительных лекарственных средств" и к. х. н., сотруднику кафедры аналитической химии химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова А.А. Фурлетову за цикл работ "Треугольные нанопластинки серебра как аналитический реагент в спектрофотометрии и спектроскопии диффузного отражения".

Т.Ю. Русанова на примере изменений импакт-факторов журналов аналитического профиля оценила тенденции развития аналитической химии в последние годы в мире и России. Средний прирост цитируемости статей в престижных журналах за 2020–2022 гг. составил 10.17% против 17.85% за 2015–2019 гг. На первом месте стоит журнал "Analytical Chemistry": IF 7.4. Лидирующее место по этому показателю среди отечественных журналов, по данным РИНЦ, занимает "Журнал аналитической химии" – IF 1.24 (2021 г.), далее "Аналитика и контроль" – 0.753 и "Заводская лаборатория" – 0.491. Число публикаций российских ученых, рассчитанное по методике Nature Index, с 2020 по 2022 гг. уменьшилось на 19%.

В отчет совета за 2022 г. поступило 266 работ из 67 организаций страны: институтов РАН, вузов, предприятий и технологических центров: 75% работ прислано в раздел "Методы аналитической химии", 23% – "Способы осуществления анализа и обработки данных". Распределение работ по методам аналитической химии дает некоторое представление о приоритетах в методах исследования. Самую большую нишу (около 30%) заняли работы по спектроскопии и масс-спектрометрии, затем следуют хроматография и родственные методы (20%), методы разделения и концентрирования (~18%), электрохимические методы (~15%), биохимические методы (~10%), остальное – другие методы. Конечно, эта статистика может не совсем точно отражать реальную картину. Например, биохимические методы в настоящее время весьма интенсивно развиваются, что не отразилось в статистике.

Далее Т.Ю. Русанова познакомила аудиторию с конкретными работами, представленными в отчете, и мнениями ведущих специалистов о развитии тех или иных направлений.

Вот, например, мнение Р.С. Борисова (ИНХС РАН) о работах по масс-спектрометрии. "Несмотря на объективные трудности с поддержанием существующего парка и получением нового

масс-спектрометрического оборудования, представленные в отчете результаты находятся в общей канве развития основных направлений применения масс-спектрометрии для аналитических целей. Традиционно большое внимание уделяется исследованию живых систем, продолжаются работы и в области органической химии, изучении конструкционных материалов, развития методов анализа особо чистых соединений и т. д. Особо следует отметить работы в области создания отечественных аналогов зарубежного оборудования и разработки новых подходов в приборостроении под эгидой Программы развития научного приборостроения в России. Это позволяет рассчитывать на появление современного научного оборудования, производимого в нашей стране".

Т.А. Кучменко (Воронежский ГУИТ) – резюме к разделу "Химические сенсоры": "Особенность работ 2022 года, которая устойчиво расширяется и видоизменяется – кооперация специалистов разных отраслей знаний, возросший интерес к результатам исследований врачей, экологов, фармацевтов и других специалистов. Многие работы велись при поддержке грантами РНФ, Фонда содействия инновациям".

С.Н. Штыков (Саратовский ГУ), раздел "Наноаналитика": "Число исследований и их разнообразие постепенно увеличиваются, но, к сожалению, не все центры, в которых развивается это направление, присылают в совет свои отчеты. Авторы классифицируют свои отчеты по нескольким признакам: причине, вызвавшей новый результат (использование нанообъекта), методу анализа, в котором использовался нанообъект, и объекту, в котором определяли аналит. Возможно, если новый результат вызван применением нанообъекта, то это явилось главным в проведенном исследовании и, следовательно, результат должен относиться к наноаналитике."

Д.О. Кирсанов (Санкт-Петербургский ГУ): "Применение хемометрики в аналитической химии в мире в последние годы все чаще связано с решением различных биомедицинских задач. Это неудивительно, поскольку сложный состав биологических образцов зачастую делает традиционную "одномерную" обработку результатов анализа если не невозможной, то уж как минимум крайне малоинформативной. Работы российских аналитиков в этом плане не являются исключением и также зачастую направлены на анализ сложных биологических объектов, особенно для целей медицинской диагностики. Кроме этого, традиционно высок интерес к применению методов хемометрики для работы с другими типичными объектами со сложной матрицей – фармацевтическими и пищевыми продуктами. Отрадно видеть, что применение дизайна эксперимента (раздела хемометрики, который российские аналитики зачастую игнорируют) нашло достойное отражение в работах 2022 года".

В.П. Колотов перечислил основные мероприятия, организованные членами совета.

**2022 г.** В марте состоялся 13-й Зимний симпозиум по хемометрике (в онлайн-формате); в апреле – участие в Деловой программе 20-й Международной выставки "АналитикаЭкспо 2022" с двумя научными семинарами (Москва, Крокус-Экспо); в сентябре – IV Съезд аналитиков России (к юбилею академика РАН Ю.А. Золотова) и 46-я Годичная сессия совета в рамках съезда, Москва.

Самым крупным событием прошедшего года был, несомненно, Съезд аналитиков России, включивший конференцию "Аналитика России" и несколько профильных конференций (413 участников, 197 устных докладов, три стендовые сессии). Средний возраст участников съезда – 42 года. В 2022 г. исполнилось 75 лет Институту геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН. Этому событию был посвящен ряд статей, и опубликована книга в издательстве Springer. В 2022 г. состоялись два заседания бюро совета в онлайн-режиме; проведено три заседания Московского семинара по аналитической химии; создана Объединенная комиссия по хроматографии Научного совета РАН по аналитической химии и Научного совета РАН по физической химии, (председатель – член-корр. РАН О.А. Шпигун, ученый секретарь – Е.В. Рыбакова) [1], комиссия по хроматографии НСАХ РАН ликвидирована.

**2023 г.** В апреле в Москве прошла 21-я Международная выставка "АналитикаЭкспо 2023", на которой советом были организованы три семинара; с 24 по 30 сентября под Туапсе в пансионате "Орбита" состоялись IV Всероссийская конференция по аналитической спектроскопии и 47-я годичная сессия совета. Комиссия по масс-спектрометрии провела в ноябре в Москве X Всероссийскую конференцию "Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы" [2]. Московский семинар по аналитической химии организовал семь заседаний. Северо-Западное отделение совета анонсировало начало работы Санкт-Петербургского семинара по аналитической химии (председатель – Л.А. Карцова). 11 сентября 2023 г. исполнилось 120 лет со дня рождения академика И.П. Алимарина (1903–1989).

**2024 г.** В планах работы совета на 2024 г. 14-й Зимний симпозиум по хемометрике (26.02–01.03, Tsaghkadzor, Armenia); участие в деловой программе 22-й Международной выставки “АналитикаЭкспо 2023” (16.04–18.04, Москва, КрокусЭкспо); XI Всероссийская конференция по электрохимическим методам анализа “ЭМА-2024” (26.05–31.05, Екатеринбург); участие в работе XX Менделеевского съезда (07.10–12.10, Сочи), в программу которого включена секция “Аналитическая химия”.

С подробной информацией о научно-организационной работе комиссий и отделений совета можно познакомиться в отчете совета за 2022 г. [3] (раздел НСАХ РАН).

Д. х. н. И.Е. Васильева в указанном выше докладе представила свой взгляд на вопрос о том, что мешает внедрению в практику разрабатываемых аналитиками-исследователями методик анализа и как преодолеваются существующие противоречия. Важной задачей химического анализа является обеспечение качества результатов, что достигается использованием стандартизированных методик, стандартных образцов (**СО**) разного уровня, соответствующего оборудования. Проблемой при обеспечении единства измерений являются особенности разных методов измерения, различия состава, структуры и свойств объектов анализа, отсутствие подходящих СО, разнообразие используемых приборов. К моменту развала СССР в национальных методиках (ГОСТ) был зафиксирован уровень развития аналитики 1970–1990-х годов. До 1980-х годов не было принципиального различия между отечественным и зарубежным оборудованием, но на рубеже веков произошла техническая революция, связанная с компьютеризацией приборов, сегодня в лидерах высокоинформативные и высокопроизводительные методы и приборы. Одновременное определение большого числа элементов в широких диапазонах содержаний предпочтительно и экономически выгодно. Используют прямые методы, не требующие предварительного изменения агрегатного состояния проб перед измерением – атомно-эмиссионную спектрометрию, рентгенофлуоресцентный, реже нейтронно-активационный анализ, а также “растворные” методы – атомно-эмиссионную спектрометрию (индуктивно связанная плазма и пламя), масс-спектрометрию с индуктивно связанной плазмой, атомную абсорбцию с непрерывным источником спектра. Большинство же государственных стандартов на методики анализа устарели: методики в ГОСТах в основном одноэлементные, нередко в них отсутствуют необходимые показатели точности и другие метрологические характеристики, они не соответствуют требованиям современного производства и современных нормативных документов.

В 2002 г. вышло постановление Госстандарта России о приведении всех стандартов на методики выполнения измерений в соответствие с основными положениями стандартов ГОСТ Р ИСО 5725 под общим заголовком “Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений”, что привело к существенному изменению требований к представлению метрологических характеристик результатов анализа и в целом нормативных документов на методики. Но отменить некоторые ГОСТы было невозможно, просто переписать старые методики по новым правилам не получилось. Пересмотр ГОСТа, т.е. по существу разработка и аттестация новых методик, проблема сложная, неподъемная для производственников, требующая соответствующего профессионального уровня, дополнительного времени и серьезного финансирования. Пересмотр национальных стандартов обсуждается более 20 лет. Росстандарт выбрал менее затратный и более легкий путь выполнения приказов. Старые ГОСТы “актуализировали”, приписав новые даты (не позднее 2015 г.). Добавили новые метрологические термины (не во всех методиках) и вставили фразу “допускается использование других методов анализа, обеспечивающих необходимую точность анализа”. Вопросы, какими методами (методиками), на каком научном основании, о какой “необходимой” точности идет речь и кто за неё отвечает, остаются открытыми. Наиболее часто используемый авторитетными лабораториями путь – разработка собственных методик (стандартов предприятия) для использования современного оборудования, их аттестация и внесение в Федеральный реестр средств измерений “Аршин”. Затраты на проведение межлабораторной проверки с участием 5–10 лабораторий – отдельная статья расходов, которая нигде и никем не предусмотрена. Напрашивается вывод: в нормативных документах необходимо заменить одноэлементные и морально устаревшие методы анализа (и способы пробоподготовки) на современные многоэлементные методы анализа. Это позволит увеличить производительность труда в лабораториях, уменьшить трудозатраты и расход реактивов, уменьшить воздействие вредных веществ на персонал, повысить информативность анализа.

Тема о связи передовых научных разработок и запоздалого, нередко непрофессионального их применения, не нова, постоянно обсуждается на конференциях, в публикациях. К причинам

имеющегося разрыва в России можно отнести сложившиеся за последние десятилетия: неуважительно-пренебрежительное отношение к российским решениям в области аналитической химии; низкий уровень общего (школьного) и профессионального образования; непрофессионализм экспертов в ведомствах, отвечающих за аттестацию методик анализа; отсутствие планирования, низкий уровень финансирования и непреодолимые межведомственные барьеры. В СССР проблема обеспечения качества измерений считалась национальной. Решения (планирование и финансирование) принимались на уровне Совета Министров СССР для всех заинтересованных ведомств. Ныне же агрессивное дилетантство в управлении отраслевой аналитикой реально побеждает здравый смысл.

После дискуссии принято решение утвердить отчет о деятельности совета в 2022 г. Презентация доклада о научной деятельности НСАХ РАН имеется на сайте [4].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. https://chrom.phyche.ac.ru
2. http://vmso.ru/2023/04/19/xi_congress
3. http://www.rusanalytchem.org
4. http://www.wssanalytchem.org/nsakh/Lists/Announcements/Attachments/51/ _2023_ReportPresentationSessionNSAKHv8.pdf

*И.Н. Киселева, В.П. Колотов*

*ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ, 2024, том 79, № 3, с. 284–285*



*УДК* 543

# ВСТУПИТЕЛЬНОЕ СЛОВО АКАДЕМИКА Ю. А. ЗОЛОТОВА НА 47-й ГОДИЧНОЙ СЕССИИ НАУЧНОГО СОВЕТА РАН ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ 26 СЕНТЯБРЯ 2023 г.

Глубокоуважаемые коллеги! Цель этой сессии научного совета – подвести итоги прошедшего года и обсудить насущные проблемы нашей деятельности.

Если не считать событий общегосударственного и мирового масштаба (а не считать их трудно), то главным событием отчетного 2022 года для российских специалистов по аналитической химии был IV Съезд аналитиков России, состоявшийся в Москве в конце сентября 2022 года. Оргкомитет съезда, ведущую роль в котором играл член-корреспондент РАН В.П. Колотов, провел большую работу по подготовке и проведению съезда. Съезд отразил направления ведущихся в стране исследований и разработок в области аналитической химии и многие достигнутые результаты. Результаты же, полученные в 2022 г., представлены в отчете научного совета за прошлый год; отчет размещен на сайте научного совета и представлен в докладе Т.Ю. Русановой.

В период после съезда и прошедшей на нем годичной сессии научного совета бюро совета приняло ряд решений. Создана Объединенная комиссия по хроматографии двух научных советов РАН – Научного совета по аналитической химии и Научного совета по физической химии; комиссия уже провела ряд мероприятий. Решен вопрос о премиях научного совета за 2022 год. Представлены необходимые материалы в президиум Российской академии наук. Совет как всегда активно участвовал в выставке “АналитикаЭкспо”. Регулярно работал Московский семинар по аналитической химии, создается семинар в Петербурге.

Петербургские аналитики И.И. Тимофеева и А.Ю. Шилов получили премию Президента РФ для молодых ученых, их принял В.В. Путин. Мы имеем удовольствие поздравить этих ученых.

Назову коллег, недавно защитивших докторские диссертации по интересующей совет тематике.

*Панчук Виталий Владимирович*, доктор физико-математических наук, кафедра аналитической химии Петербургского университета, защитил работу в Институте аналитического приборостроения РАН по специальности “Приборы и методы экспериментальной физики”; в диссертационной работе сделан упор на хемометрику. *Гуськов Владимир Юрьевич*, доктор химических наук, кафедра аналитической химии Башкирского государственного университета, специальность “Физическая химия”, защитил работу в Уфе (Уфимский ФИЦ РАН), тема – хиральная хроматография. *Костюкевич Юрий Иродионович*, доктор химических наук, сотрудник Сколковского института науки и техники, защитил диссертацию в МГУ им. М.В. Ломоносова, тема – масс-спектрометрия высокого разрешения в применении в основном к биообъектам. *Статкус Михаил Александрович*, сотрудник кафедры аналитической химии МГУ им. М.В. Ломоносова, доктор химических наук, защитил работу там же, в МГУ, тема – динамическое сорбционное концентрирование. *Жердев Анатолий Витальевич*, сотрудник ФНЦ Биотехнологии РАН, доктор химических наук, защита в форме научного доклада по специальности “Биохимия”, тема – иммунохроматографические методы анализа. *Ставрианиди Андрей Николаевич*, сотрудник кафедры аналитической химии МГУ им. М.В. Ломоносова, теперь доктор химических наук по специальности “Аналитическая химия”; работа выполнена в области хромато-масс-спектрометрии. *Гавриленко Наталия Айратовна*, доктор химических наук, Томский государственный университет; диссертация, посвященная оптическим системам на основе метилметакрилатной матрицы, была защищена в Саратовском университете.

За прошедший после предыдущей сессии период ряд членов совета отметили юбилеи. Шестидесятилетие отметил А.М. Григорьев, 65 лет исполнилось О.Б. Рудакову, А.Л. Финкельштейну, В.А. Лабусову, О.В. Родинкову, 70 лет – А.Р. Тимербаеву, А.А. Ганееву, К.Н. Михельсону, А.И. Крылову, 75 – В.И. Дворкину, Г.И. Бараму, А.А. Ищенко, Б.Б. Дзантиеву. 80-летие отметили М.А. Большов и В.В. Помазанов, 85 – А.В. Андреев, 90-летие – З.Л. Баскин, Ю.А. Золотов, Б.Н. Изотов,

В.К. Чеботарев. Юбилеи отметили также А.Н. Козицина, Е.И. Моросанова, И.В. Кубракова, Е.Г. Сумина, А.В. Буланова, Л.А. Онучак, Л.К. Неудачина.

К глубокому сожалению, за истекший год совет понес существенные потери. 2 октября 2022 г. ушел из жизни выдающийся ученый Вадим Александрович Даванков. Доктор химических наук, профессор Даванков был поистине творческим человеком, он очень многое сделал для науки, по уровню и результатам деятельности академик, он был недооценен влиятельным окружением. Однако коллеги-специалисты понимают, какой величины ученого и человека мы потеряли.

2 февраля 2023 г. скончался д. ф.-м. н. профессор Гелий Вениаминович Павлинский, известный специалист по рентгеновской спектрометрии, работавший в Иркутске. 17 мая не стало члена-корреспондента АН Башкортостана Валерия Николаевича Майстренко, нашего дорогого коллеги, крупного ученого в области электрохимических методов анализа, члена бюро совета, члена редколлегии "Журнала аналитической химии", заведующего кафедрой аналитической химии Башкирского государственного университета, замечательного человека. С интервалом в один день мы лишились крупнейших хроматографистов – Игоря Александровича Ревельского (10 июля) и Якова Ивановича Яшина (11 июля). Профессор Ревельский был также одним из ведущих наших ученых в области масс-спектрометрии, создателем одного из способов ионизации. Что же касается Якова Ивановича Яшина, то его вклад в развитие газоабсорбционной газовой хроматографиии, и особенно в разработку и организацию выпуска хроматографических приборов, трудно переоценить. В последние годы Яков Иванович был почетным членом нашего совета. Его квалификация, преданность делу, энтузиазм могут служить примером.

За истекший год продолжали сокращаться наши контакты с зарубежными коллегами. Обеспеченность импортной аналитической техникой неудовлетворительна. В системе образования и подготовки кадров высшей квалификации тридцать лет не прекращаются всякого рода перемены, перестройки, переакцентировки. Имеют место заминки с распространением наших журналов, разговор о которых был на предыдущей сессии совета. Санкции не способствуют доступности наших публикаций.

В журнале "Аналитика и контроль" теперь новый главный редактор – Д.Г. Лисиенко; пожелаем ему успехов. Длительное время главным редактором был А.А. Пупышев; когда он покинул этот пост, я как председатель научного совета направил ему письмо следующего содержания:

"Глубокоуважаемый Александр Алексеевич! От имени членов Научного совета РАН по аналитической химии выражаю Вам глубокую благодарность за многолетнюю работу на посту главного редактора журнала "Аналитика и контроль". Благодаря Вашим усилиям журнал стал одним из ключевых изданий среди российских журналов аналитического профиля, востребованным и пользующимся большой популярностью в среде аналитиков. Ваш энтузиазм, чувство ответственности, профессионализм и преданность журналу стали залогом этого успеха. Желаю Вам хорошего самочувствия. Надеюсь, что, даже уйдя с поста главного редактора, имея огромный опыт руководства журналом, Вы сможете оказывать помощь новому составу редколлегии."

Надеюсь, что члены совета присоединятся к словам в этом письме.

Если коснуться содержательной части проводимых аналитиками нашей страны исследований и разработок, то можно сказать, что общие их тенденции в значительной степени совпадают с общемировыми. Это касается развиваемых и применяемых методов и подходов к анализу, создания средств анализа, повышенного интереса к биомедицинским объектам, пищевым продуктам и лекарственным веществам, анализу сложных, многокомпонентных смесей, эффективному применению хемометрических приемов и т. д.

Сессия совета будет проведена в соответствии с опубликованной программой, только вместо ученого секретаря совета И.Н. Киселевой сообщение о научно-организационной деятельности совета сделает заместитель председателя совета В.П. Колотов.

Участникам сессии научного совета я желаю ярких научных достижений, эффективного решения прикладных проблем, преодоления трудностей.

Спасибо за внимание.

*ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ, 2024, том 79, № 3, с. 286–288*

ХРОНИКА

# Л. Н. Галль

21 октября 2023 г. ушла из жизни доктор физико-математических наук, профессор Лидия Николаевна Галль, выдающийся учёный в области физической электроники и масс-спектрометрии, разработчик масс-спектрометрических приборов.

Лидия Николаевна Галль (Логинова) родилась 1 сентября 1934 г. в Ленинграде в семье служащих. В 1951 г. она с золотой медалью окончила школу и поступила на радиотехнический факультет Ленинградского политехнического института им. М.И. Калинина. Окончив институт в 1957 г. с “красным дипломом”, она получила квалификацию “инженер-исследователь” по специальности “Физическая электроника” и была направлена на работу в СКБ аналитического приборостроения АН СССР. В 1978 г., после образования Института аналитического приборостроения АН СССР, Лидия Николаевна была включена в состав новой лаборатории “Инструментальные методы анализа” в качестве заведующей сектором масс-спектрометрии. Спустя некоторое время сектор был преобразован в лабораторию, заведующей которой была назначена Лидия Николаевна.

За время работы в СКБ и институте Лидия Николаевна Галль участвовала в создании масс-спектрометрических приборов, выпущенных, начиная с 1960 г., как разработчик их ионно-оптических систем и источников ионов. Многие отечественные масс-спектрометры с уникальными характеристиками (МХ-1320, МИ-3304, МИ-3305, МСД-650 и др.) были созданы под руководством и при непосредственном участии Л.Н. Галль, выполнявшей обязанности главного конструктора этих приборов. В 1971 г. Лидия Николаевна Галль защитила диссертацию на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук, а в 1983 г.– стала доктором физико-математических наук по специальности “Физическая электроника”.

Одним из важнейших достижений Лидии Николаевны является метод экстракции ионов из растворов при атмосферном давлении (ЭРИАД), также известный как ионизация электрораспылением. Метод ЭРИАД нашел широкое применение и под названием “электроспрей” стал основой современной масс-спектрометрии для биологических и медицинских приложений. Этот метод совершил революцию в масс-спектрометрии нелетучих и термонестабильных органических соединений, прежде всего пептидов и нуклеиновых кислот, сделал возможным появление таких быстро развивающихся направлений современных биологии и биохимии, как протеомика, геномика, протеогеномика, транскриптомика, метаболомика и др. Вклад Л.Н. Галль в развитие масс-спектрометрии отмечен орденом “Знак Почёта”; золотой медалью “За выдающиеся заслуги в области масс-спектрометрии” Всероссийского масс-спектрометрического общества (2007); самой престижной наградой в области масс-спектрометрии – медалью Томсона (2022), вручаемой Международным масс-спектрометрическим фондом и медалью Мануэля Ривьероса (2022), вручаемой Ассоциацией масс-спектрометристов Латинской Америки и Бразильским масс-спектрометрическим обществом.

Работам Л.Н. Галль был свойствен новаторский дух, стремление к изобретательству. В разработанных ею приборах присутствуют необычные технические решения, позволившие получать высокие аналитические параметры. Именно в ее разработках впервые были использованы статические масс-анализаторы с круглыми границами и последовательность “магнит–электростатик” в двух каскадных приборах, что позволило получить исключительно высокое качество линии; использован трубчатый эмиттер в поверхностно ионизационном источнике, позволивший впервые измерить изотопное отношение в пробе, содержащей 10 000 атомов урана; разработан трехленточный источник для поверхностной ионизации, до сих пор применяемый во всех соответствующих приборах в мире. Ею предложена новая концепция источника с ионизацией электронами и новый способ сбора ионов в плазменном источнике.

Л.Н. Галль созданы научные основы современной теории масс-спектрометрических приборов, позволяющей рассматривать во взаимосвязи разработку новых методов ионизации атомов и молекул и оптимально отвечающих им новых масс-анализаторов для элементного, изотопного и молекулярного анализа. Ею проведены фундаментальные исследования различных методов ионизации, теоретически рассмотрены и оптимизированы наиболее часто применяемые в масс-спектрометрии источники ионов. Л.Н. Галль внесла значительный вклад в исследования ионизации газов и паров электронами, поверхностной ионизации солей и оксидов трудно ионизуемых веществ, ионизации атомов и молекул в сильных электрических полях, ионизации твердых образцов методами масс-спектрометрии вторичных ионов, в тлеющем разряде и в плазме дугового разряда, кроме того, ею был предложен и разработан новый метод элементного анализа диэлектриков – ионизация в скользящем разряде.

Много сил и времени Лидия Николаевна тратила на работу с молодежью. Она внимательно следила за ходом выполнявшихся в её лаборатории научных работ студентов и аспирантов, всегда была готова помочь советом, обсудить проблему. Своим ученикам Лидия Николаевна часто говорила, что настоящий ученый не должен быть ремесленником и скрывать секреты своего мастерства, была убеждена, что фундаментальная наука должна быть общим достоянием. Под непосредственным руководством Лидии Николаевны защитили кандидатские диссертации многочисленные аспиранты и соискатели. “Выпускники” ее школы работают в научных лабораториях, центрах и приборостроительных компаниях, разбросанных по всему миру. Среди ее учеников такие выдающиеся масс-спектрометристы и ионные оптики, как В. Николаев, В. Шкуров, Н. Краснов, А. Веренчиков, В. Сачeнко, Ю. Хасин, Р. Зубарев, Ю. Голиков, М. Явор, М. Мурадымов и многие другие создатели современных научных приборов и их узлов, разработчики методов расчета ионно-оптических систем, те, чьими трудами создаются современные приборы, которые используются во всем мире.

Широта её научных интересов поражала. Никогда не оставляя свою главную любовь, масс-спектрометрию, Лидия Николаевна в последние годы жизни также занималась изучением биохимических процессов в объектах окружающей среды, в том числе – исследованием влияния внешних физических факторов низкой интенсивности на живые и модельные системы в водных растворах, созданием в этой области новых методик и приборных комплексов с активным использованием возможностей масс-спектрометрических методов, а также с помощью творчески адаптированного ею для решения этого класса задач метода диэлькометрии. По её инициативе и при непосредственном участии была организована серия конгрессов “Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии

и медицине”, которые объединяли энтузиастов из самых разных областей современной науки, осознавших необходимость развития этого направления. Написанные ею книги, посвященные новой физической концепции роли воды в биохимии и биофизики живых организмов, вызвали огромный интерес со стороны биохимиков и биофизиков и рассматриваются ими как революционный шаг в этой науке.

Лидия Николаевна пользовалась непререкаемым авторитетом и глубоким уважением в масс-спектрометрическом сообществе, у коллег в России и за рубежом. Она выступала на всех съездах Всероссийского масс-спектрометрического общества, в создании которого принимала непосредственное участие и почётным членом которого она являлась с 2005 года. Своим оптимизмом и жизнелюбием, обширными знаниями и житейской мудростью Лидия Николаевна щедро делилась с окружающими. У многих в памяти остались ее увлекательные лекции, которые с неизменным интересом воспринимались как профессионалами в области масс-спектрометрии, так и студентами и аспирантами, только вступающими в эту интереснейшую область физики и аналитической химии. Разработанный ею авторский курс лекций “Физические основы масс-спектрометрии”, который она в течение ряда лет с успехом читала студентам Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, привлёк в масс-спекрометрию много талантливой молодёжи.