

Том 79, Номер 9

ISSN 0044-4502
Сентябрь 2024



ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ



НАУКА

— 1727 —

СОДЕРЖАНИЕ

Том 79, номер 9, 2024

ОБЗОРЫ

Методы выделения органических соединений из твердых образцов.

2. Экстракция в суб- и сверхкритических условиях. Матричная твердофазная дисперсия.

Метод QuEChERS. Обзор обзоров

С. Г. Дмитриенко, В. В. Аняри, В. В. Толмачева, М. В. Горбунова,

А. А. Фурлетов, Г. И. Цизин, Ю. А. Золотов

935

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Цифровой цветометрический анализ водных и водно-органических систем с применением гидрофильных композитных пленок сшитый поливиниловый спирт–магнетит

И. С. Щемелев, Т. В. Зиновьев, А. В. Иванов, Н. Б. Ферапонтов

960

Флуоресцентные тест-системы на основе азолотриазинов для диагностики эндометрита у коров в полевых условиях

Т. А. Кучменко, Д. Ю. Вандышев, В. Н. Скориков, Р. У. Умарханов,

Х. С. Шихалиев, П. В. Середин, В. В. Ягов, В. И. Михалев

971

Экспериментальное и теоретическое изучение проявления основных фоновых однозарядных аргидных ионов AgM^+ в методе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой

А. А. Пупышев, П. В. Зайцева, М. Ю. Бурылин, А. Г. Абакумов, П. Г. Абакумов

988

Определение микроэлементного состава и U-Pb-датирование апатита методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и лазерной абляцией на NexION 300S с приставкой NWR 213

М. В. Червяковская, В. С. Червяковский, А. А. Пупышев, С. Л. Вотяков

999

Применение композита на основе наночастиц магнетита, оксида графена и ионной жидкости для извлечения бисфенола А из донных отложений методом матричного твердофазного диспергирования

А. С. Губин, П. Т. Суханов, А. А. Кушнир

1016

Магнитная твердофазная экстракция с диспергированием магнитного сверхсшитого полистирола углекислым газом для выделения амфениколов из меда и молока при их определении методом ВЭЖХ-МС/МС

Н. О. Гончаров, В. В. Толмачева, Т. В. Лазаревич, А. О. Мелехин, И. Д. Пурыскин,

В. В. Аняри, С. Г. Дмитриенко

1028

Селективное вольтамперометрическое определение дофамина на электроде, модифицированном частицами палладия и молекулярно-импринтированным полимером из никотинамида

Л. Г. Шайдарова, И. А. Челнокова, Д. Ю. Хайруллина, Ю. А. Лексина, Г. К. Будников

1037

В НАУЧНОМ СОВЕТЕ РАН ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Заседание бюро совета

1045

CONTENTS

Analytical Chemistry, Vol. 79, No. 9, 2024

REVIEWS

Methods of organic compounds isolation from solid samples. 2. Extraction under sub- and supercritical conditions. Matrix solid-phase dispersion. The QuEChERS method

*S. G. Dmitrienko, V. V. Apyari, V. V. Tolmachev, M. V. Gorbunov, A. A. Furletov,
G. I. Tsizin, Yu. A. Zolotov*

935

ORIGINAL ARTICLES

Digital colorimetric analysis of aqueous and water-organic systems using hydrophilic crosslinked polyvinyl alcohol–magnetite composite films

I. S. Shemelev, T. V. Zinoviev, A.V. Ivanov, N. B. Ferapontov

960

Fluorescent azolotriazines-based test systems based for the diagnosis of endometritis in cows on site conditions

*T. A. Kuchmenko, D. Y. Vandyshev, V. N. Skorikov, R. U. Umarkhanov, H. S. Shikhaliev,
P. V. Seredin, V. V. Yagov, V. I. Mikhalev*

971

Experimental and theoretical study of the manifestation of the main background single-charge arid ions ArM^+ in the inductively coupled plasma mass spectrometry method

A. A. Pupyshev, P.V. Zaitseva, M. Yu. Burylin, A.G. Abakumov, P.G. Abakumov

988

Determination of trace element composition and u-pb dating of apatite by inductively coupled plasma mass spectrometry and laser ablation on NexION 300S with NWR 213 accessory

M. V. Chervyakovskaya, V. S. Chervyakovskiy, A. A. Pupyshev, S. L. Votyakov

999

Application of a composite based on magnetite nanoparticles, graphene oxide and ionic liquid for the extraction of bisphenol A from bottom sediments by matrix solid-phase dispersion

A. S. Gubina, P. T. Sukhanova, A. A. Kushnira

1016

Magnetic solid-phase extraction with dispersion of magnetic hypercrosslinked polystyrene with carbon dioxide for the isolation of amphenicols from honey and milk in their determination by HPLC-MS/MS

*N. O. Goncharov, V. V. Tolmachev, T. V. Lazarevich, A. O. Melekhin, I. D. Purytskin,
V. V. Apyari, S. G. Dmitrienko*

1028

Selective voltammetric determination of dopamine on an electrode modified with palladium particles and a molecular imprinted polymer from nicotinamide

L. G. Shaidarova, I. A. Chelnokova, D. Y. Khairullina, Y. A. Leksina, H. C. Budnikov

1037

IN THE SCIENTIFIC COUNCIL OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES ON ANALYTICAL CHEMISTRY

Council Bureau meeting

1045

УДК 543.068, 543.05, 543.63

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ИЗ ТВЕРДЫХ ОБРАЗЦОВ. 2. ЭКСТРАКЦИЯ В СУБ- И СВЕРХКРИТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ. МАТРИЧНАЯ ТВЕРДОФАЗНАЯ ДИСПЕРСИЯ. МЕТОД QUECHERS. ОБЗОР ОБЗОРОВ

© 2024 г. С. Г. Дмитриенко^a, В. В. Апяри^a, В. В. Толмачева^{a, *}, М. В. Горбунова^a,
А. А. Фурлетов^a, Г. И. Цизин^a, Ю. А. Золотов^{a, b}

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

^bИнститут общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук
Ленинский проспект, 31, Москва, 119991, Россия

*E-mail: nikatolm@mail.ru

Поступила в редакцию 13.02.2024 г.

После доработки 04.03.2024 г.

Принята к публикации 05.03.2024 г.

Вторая, завершающая часть обзора. Приводятся общие сведения об экстракции в суб- и сверхкритических условиях (жидкостная экстракция под давлением, экстракция субкритической водой, сверхкритическая флюидная экстракция), о методе матричной твердофазной дисперсии и методе QuEChERS. На основании анализа обзорных работ систематизирована информация об особенностях осуществления пробоподготовки с помощью этих методов, рассмотрены экспериментальные параметры, влияющие на эффективность экстракции, приведены примеры использования этих методов для выделения органических соединений при анализе твердых объектов окружающей среды, пищевых продуктов и растений.

Ключевые слова: жидкостная экстракция под давлением, экстракция субкритической водой, сверхкритическая флюидная экстракция, матричная твердофазная дисперсия, QuEChERS, извлечение органических соединений.

DOI: 10.31857/S0044450224090014, EDN: tjcajn

Выделение органических соединений из твердых образцов представляет собой важнейший, наиболее сложный и трудоемкий этап химического анализа перед их определением. До сих пор для этой цели широко применяют классические методы жидкостной экстракции из твердых матриц — экстракцию путем механического встряхивания, экстракцию в аппарате Сокслета или ультразвуковую экстракцию [1–4]. К недостаткам этих методов относят длительность экстракции, использование большого количества органических растворителей, зачастую очень токсичных, низкие выходы, трудность автоматизации и риск разрушения термочувствительных соединений. Кроме того, после проведения пробоподготовки с применением перечисленных методов в ряде случаев требуются дальнейшая очистка и концентрирование.

Современная тенденция развития методов пробоподготовки в целом, а также пробоподготовки твердых образцов в частности связана с применением “более экологичных” подходов за счет сокращения количества используемых токсичных растворителей или их полного исключения и замены так называемыми “зелеными” растворителями, автоматизации и миниатюризации оборудования, сокращения числа аналитических операций, минимизации негативного воздействия на окружающую среду и здоровье человека [5–9]. Кроме того, одним из заметных направлений является сочетание различных методов пробоподготовки в одном аналитическом цикле [10, 11], а также онлайн сочетание методов пробоподготовки с методами последующего определения [12].

В большинстве современных методов жидкостной экстракции из твердых матриц для

сокращения продолжительности экстракции и снижения потребления растворителей используются повышенные температура и давление, а также экологически безопасные растворители. Как отмечено в цитируемых выше обзорах, принципам “зеленой аналитической химии” [13] соответствуют жидкостная экстракция под давлением, экстракция субкритической водой и сверхкритическая флюидная экстракция. Кроме того, к “зеленым” методам пробоподготовки относят матричную твердофазную дисперсию и метод QuEChERS. Развитию двух последних методов во многом способствовала возможность проведения экстракции и очистки за один этап, что значительно сокращает продолжительность анализа и количество используемых растворителей. Кроме того, эти методы не требуют специального оборудования, просты в исполнении и характеризуются низкой стоимостью.

Во второй части настоящего обзора обобщены обзорные статьи, посвященные жидкостной экстракции под давлением, экстракции субкритической водой, сверхкритической флюидной экстракции, матричной твердофазной дисперсии и методу QuEChERS; дана общая характеристика методов, рассмотрены способы их осуществления, перечислены экспериментальные параметры, влияющие на эффективность выделения органических соединений, приведены примеры практического применения методов в процессе пробоподготовки различных объектов. В первой части обзора были обобщены обзорные статьи, описывающие традиционные способы выделения органических соединений из твердых образцов, — жидкостную экстракцию при встряхивании, экстракцию в аппарате Сокслета, ультразвуковую экстракцию и экстракцию в микроволновом поле [14].

ЭКСТРАКЦИЯ В СУБ- И СВЕРХКРИТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

К современным методам экстракции в суб- и сверхкритических условиях относятся жидкостная экстракция под давлением, также известная как ускоренная экстракция растворителями, экстракция субкритической водой и сверхкритическая флюидная экстракция [15–17]. Эти методы объединяет то, что все они осуществляются под высоким давлением и при повышенных температурах, существенно изменяющих физико-химические характеристики экстракционных растворителей. Преимущества методов заключаются в резком сокращении количества органических растворителей и продолжительности экстракции, а также в высокой производительности и возможности автоматизации процесса пробоподготовки. Кроме того, использование в качестве растворителей экологически

безопасных субкритической воды и сверхкритического CO_2 позволяет отнести эти методы к “зеленым” методам пробоподготовки. В последние пять лет наблюдается бум в применении этих методов в технологических процессах для выделения биологически активных веществ (фенольных соединений, лигнанов, каротиноидов, масел и липидов, эфирных масел и других нутрицевтиков) из различного растительного сырья и пищевых продуктов [18–25]. Несмотря на высокую стоимость лабораторного оборудования, необходимого для проведения экстракции, эти методы не утратили актуальности и в химическом анализе, о чем свидетельствует число обзоров, посвященных применению жидкостной экстракции под давлением [26–44], экстракции субкритической водой [45–57] и сверхкритической флюидной экстракции [58–78] для выделения органических соединений из природных и биологических твердых объектов, а также пищевых продуктов (табл. 1). Важным аргументом в пользу этих дорогостоящих методов является также сокращение применения ручного труда за счет автоматизации процесса.

Жидкостная экстракция под давлением (ЖЭД, pressurized liquid extraction, PLE) представляет собой автоматизированный метод подготовки проб, основанный на использовании повышенных температуры и давления для увеличения эффективности экстракции растворителями, применимый к твердым и полутвердым матрицам. В табл. 1 в хронологическом порядке перечислены обзоры, посвященные применению жидкостной экстракции под давлением для выделения органических соединений из твердых образцов [26–44].

Несколько слов о путанице, которая до сих пор существует относительно названия метода [26, 29, 40]. Метод и соответствующее оборудование разработаны и запатентованы фирмой “Dionex” (США) под коммерческим названием “accelerated solvent extraction, ASE”, первая публикация появилась в 1996 г. Поскольку в первые несколько лет после появления метода единственным коммерчески доступным экстрактором для его проведения была экстракционная установка ASE1 200, многие авторы в своих исследованиях использовали название метода, предложенное фирмой. Со временем появились альтернативные названия метода, которые стали вытеснять его коммерческое название, не отражающее сути метода. В США этот метод известен под названием “pressurized fluid extraction”. Американское химическое общество ввело аббревиатуру PFE в своих журналах. Этот термин и аббревиатура также используются Агентством по охране окружающей среды США в методе EPA 3545 “Экстракция летучих и средне-летучих соединений из почв, глин, отложений,

Таблица 1. Хронология обзоров, посвященных современным вариантам экстракции органических соединений из твердых матриц в суб- и сверхкритических условиях

Год	Тематика обзора	Литература
Жидкостная экстракция под давлением (ЖЭД)		
2000	ЖЭД стойких органических загрязнителей из объектов окружающей среды	[26]
2001	Некоторые аспекты теории и практики ускоренной экстракции растворителями (ASE) при анализе твердых проб окружающей среды	[27]
2002	Общие аспекты ЖЭД и экстракции субкритической водой: оборудование, экспериментальные параметры, примеры применения в анализе объектов окружающей среды	[28]
2004	Сочетание ЖЭД с другими этапами пробоподготовки объектов окружающей среды	[29]
2005	ЖЭД в анализе пищевых продуктов и объектов окружающей среды	[30]
2006	ЖЭД для выделения хлорорганических пестицидов, ПАУ, ПХБ, дибензофуранов и других стойких органических загрязнителей из объектов окружающей среды	[31]
	ЖЭД стойких органических загрязнителей из пищевых продуктов и кормов	[32]
2010	ЖЭД фармацевтических препаратов и средств личной гигиены из осадков сточных вод	[33]
	ЖЭД фармацевтических препаратов из экологических и биологических матриц: экспериментальные параметры и примеры применения	[34]
2011	ЖЭД как экологичный подход к экстракции пищевых продуктов и трав	[35]
2012	ЖЭД для выделения органических загрязнителей, биологически активных и питательных веществ из пищевых продуктов и кормов	[36]
2013	Сочетание ЖЭД с дериватизацией	[37]
2015	Селективная ЖЭД: способы осуществления, сорбенты, применение ЖЭД	[38]
	ЖЭД из объектов окружающей среды и пищевых продуктов: преимущества и недостатки по сравнению с другими способами пробоподготовки	[39]
2018	Сочетание этапов экстракции и очистки при подготовке проб объектов окружающей среды методами ЖЭД и матричной твердофазной дисперсии	[40]
2019	Обновленная информация о применении ЖЭД для выделения органических соединений из объектов окружающей среды и пищевых продуктов за период 2015–2019 гг.	[41]
2021	ЖЭД в режиме онлайн в анализе лекарственных трав	[42]
	Методы очистки абиотических твердых проб окружающей среды ЖЭД	[43]
2023	ЖЭД из проб пищевых продуктов: принцип метода, способы осуществления, параметры, влияющие на экстракцию	[44]
Экстракция субкритической водой (ЭСКВ)		
2002	ЭСКВ: принцип метода, способы осуществления и примеры применения для выделения органических соединений	[45]
2005	Подробный обзор о свойствах воды в субкритическом состоянии	[46]
2006	Краткий обзор о применении субкритической воды в методах разделения	[47]
	ЭСКВ для выделения аналитов из растений	[48]
2007	ЭСКВ: принцип метода, способы осуществления, примеры применения для выделения органических соединений	[49]
2010	ЭСКВ: принцип метода, механизм, способы осуществления, параметры, влияющие на экстракцию, примеры применения	[50]

Таблица 1. Окончание

2015	Экстракция субкритической водой биологически активных соединений	[51]
2016	ЭСКВ биологически активных соединений из растений	[52]
2017	Краткий обзор о свойствах субкритической воды как зеленого растворителя и примеры использования за период 2015–2017 гг.	[53]
	Вода в субкритическом состоянии: применение в химическом анализе	[54]
2019	ЭСКВ биологически активных соединений: принцип метода, механизм, способы осуществления	[55]
2020	ЭСКВ и СФЭ биологически активных соединений: принцип методов, способы осуществления, примеры применения	[56]
2021	ЭСКВ для выделения алкалоидов, гликозидов, флавоноидов, эфирных масел, хинонов, органических кислот, полифенолов, углеводов из растений, морских водорослей, грибов	[57]
Сверхкритическая флюидная экстракция (СФЭ)		
1990	Первый обзор о применении сверхкритических флюидов для выделения органических аналитов из твердых образцов: преимущества и ограничения	[58]
1993	СФЭ в анализе объектов окружающей среды	[59]
	Аналитическая СФЭ: принцип метода, параметры, влияющие на экстракцию, примеры применения в пробоподготовке объектов окружающей среды	[60]
1995	СФЭ в анализе объектов окружающей среды	[61]
1997	СФЭ пестицидов из пищевых продуктов	[62]
2000	СФЭ пестицидов из растений, фруктов, почв, продуктов питания	[63]
	Применение СФЭ и хроматографии в судебной медицине	[64]
2001	СФЭ биологически активных соединений из растений	[65]
2002	Обсуждены способы сбора экстрактов после СФЭ	[66]
2004	Принцип, достоинства и недостатки СФЭ, примеры использования за период 1992–2002 гг.	[67]
2006	СФЭ органических соединений из почв и отложений	[68]
2008	СФЭ: принцип метода, параметры, влияющие на экстракцию, применение в анализе пищевых продуктов	[69]
2009	Применение СФЭ для выделения загрязняющих органических соединений из различных твердых объектов, включая ткани животных и растений	[70]
2010	Свойства сверхкритических флюидов и примеры их применения в СФЭ	[71]
	Достижения и примеры практического применения СФЭ за период 2007–2009 гг.	[72]
2011	Зеленые химические процессы со сверхкритическими флюидами для создания новых материалов, разделения и энергетики	[73]
	СФЭ эфирных масел из растений: экспериментальные параметры и примеры практического применения за период 2005–2011 гг.	[74]
2012	Теоретические модели СФЭ	[75]
2013	Пробоподготовка в химическом анализе методом сверхкритической флюидной экстракции	[76]
2014	Возможности, преимущества, недостатки и перспективы использования СФЭ в химическом анализе	[77]
2019	Онлайн сочетание СФЭ со сверхкритической флюидной хроматографией и другими хроматографическими методами	[78]

илов и твердых отходов путем использования растворителей при высоких давлениях и температуре”. Кроме того, этот метод также называют экстракцией горячим растворителем под давлением (pressurized hot solvent extraction, PHSE), жидкостной экстракцией под давлением (pressurized liquid extraction, PLE), экстракцией растворителем под высоким давлением (high-pressure solvent extraction, HPSE) и субкритической экстракцией растворителем (sub-critical solvent extraction, SSE). В научной литературе, в частности в журналах, выпускаемых издательством Elsevier Science, чаще других используется термин “pressurized liquid extraction” и аббревиатура PLE. Несмотря на то, что в русскоязычной литературе этот метод больше известен под коммерческим названием “Ускоренная экстракция растворителями”, в настоящем обзоре мы будем использовать термин “Жидкостная экстракция под давлением”, которого придерживаются авторы большинства публикаций, цитируемых в этом обзоре.

Принцип метода подробно рассмотрен в обзорах [30, 35, 39, 40, 44]. Жидкостную экстракцию под давлением проводят в интервале между температурой кипения растворителя и его критической температурой при давлении, незначительно превышающем давление равновесного пара растворителя. В результате совместного использования высокого давления и температуры снижаются вязкость и поверхностное натяжение, что позволяет растворителю более эффективно проникать в структуру матрицы, усиливая извлечение целевых соединений. Использование высокой температуры увеличивает растворимость аналитов и скорость массопереноса. Повышенное давление удерживает растворители в жидком состоянии, и таким образом обеспечивается безопасное и быстрое извлечение, а использование автоматизированных приборов позволяет разрабатывать менее трудоемкие методики и повышает воспроизводимость. Кроме того, возможность совмещения этапов экстракции и очистки путем включения слоя адсорбента, удерживающего мешающие соединения, непосредственно в экстракционные ячейки делает этот метод чрезвычайно универсальным и селективным. Более подробно достоинства и недостатки жидкостной экстракции под давлением по сравнению с другими методами пробоподготовки твердых проб с точки зрения потребления органических растворителей, времени процесса и стоимости оборудования приведены в обзоре [44].

Процедура жидкостной экстракции под давлением подробно описана в нескольких обзорах [26, 28, 30, 33, 35, 36, 44]. Она включает диспергирование образца инертным материалом; помещение смешанного образца в стальную

экстракционную ячейку; заполнение ячейки органическим растворителем; нагрев сосуда (обычно до 75–200°C) и повышение давления до установленного значения (обычно до 100 атм); экстракцию целевых аналитов в течение определенного времени; перенос экстракта во флакон для сбора и очистку пробы свежим растворителем; удаление остатков растворителя из пробы путем продувания ячейки газообразным азотом (рис. 1). Конфигурация базового оборудования для проведения ЖЭД зависит от того, является ли процесс статическим с использованием фиксированного объема экстрагента или динамическим, когда экстрагент подается непрерывно через экстракционную ячейку в течение всего времени экстракции. Большая часть оборудования, работающего в автоматическом режиме, позволяет загружать до 24 ячеек, объем которых может изменяться от 1 до 100 мл, причем чаще всего применяют ячейки объемом 33 мл. В настоящее время системы для проведения жидкостной экстракции под давлением предлагаются тремя поставщиками: “Thermo Scientific” (США) (система ускоренной экстракции растворителем, ASE, ранее Dionex); “Fluid Management Systems, Inc.” (США) (FMS) (система PLE); и “Büchi” (Швейцария) (система Speed Extractor) [40].

Блок-схема установок ЖЭД для проведения экстракции в статических или динамических условиях приведена в обзорах [26, 28, 41, 44]. Технические решения, сочетающие статическую и динамическую жидкостную экстракцию под давлением с другими этапами аналитического процесса (предварительное концентрирование, дериватизация, фильтрация, хроматографическое разделение и детектирование) приведены в обзорах [29, 42]. Так, в обзоре [42] проанализированы публикации, посвященные анализу лекарственных средств растительного происхождения с применением онлайн жидкостной экстракции под давлением и последующего ВЭЖХ-МС/МС-определения. Вопросам последовательного сочетания жидкостной экстракции под давлением с дериватизацией, а также одновременного проведения экстракции и дериватизации *in situ* посвящен обзор [37], в котором отмечается, что условия, создаваемые в методе ЖЭД, позволяют проводить дериватизацию с меньшим количеством дериватизирующего реагента.

Экспериментальные параметры, влияющие на полноту выделения органических соединений из твердых матриц методом ЖЭД, систематизированы в ряде обзоров [26, 27, 30, 33–36, 39–41, 44]. Условно эти параметры можно разделить на три группы: варьируемые на стадии подготовки образца; варьируемые на этапе экстракции; варьируемые после проведения экстракции [30,

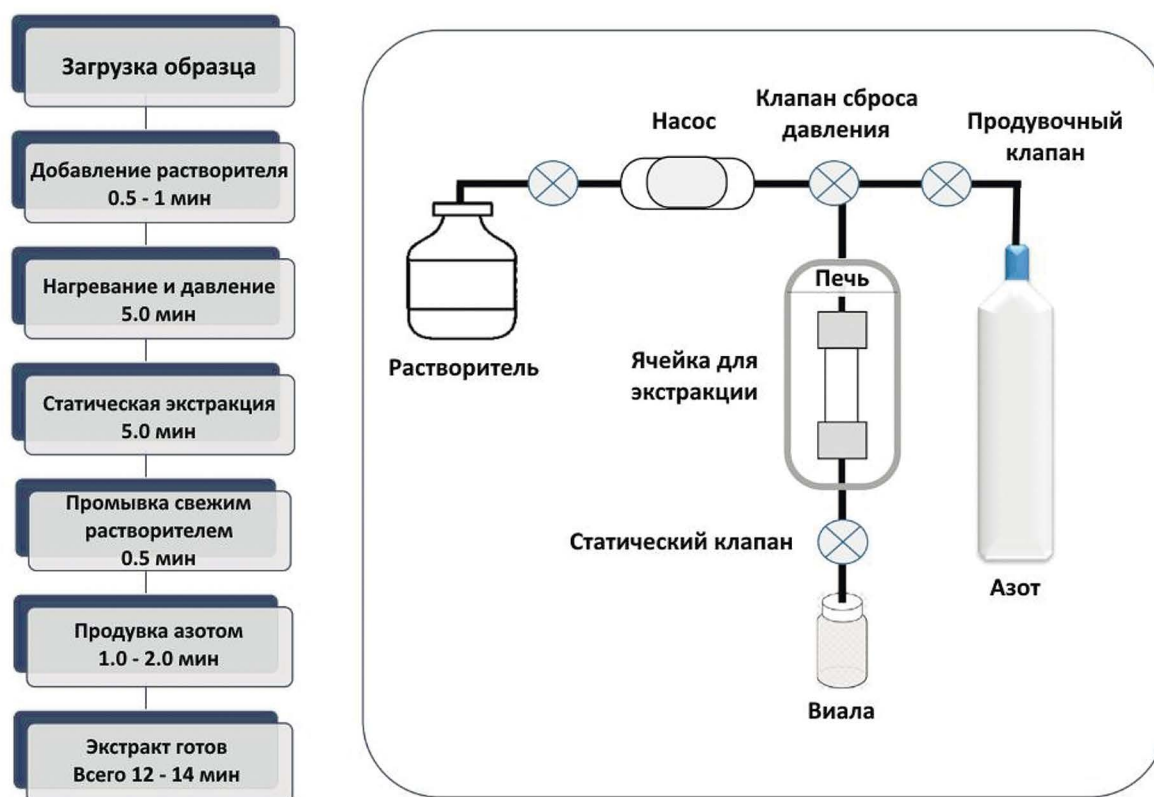


Рис. 1. Схема проведения жидкостной экстракции под давлением [41].

33, 35, 44]. Предварительная обработка образца обычно включает гомогенизацию образца и его просеивание, поскольку диффузию аналитов из образца в растворитель можно значительно увеличить за счет уменьшения размера частиц. Чтобы предотвратить агрегацию мелких частиц образца, в большинстве методик измельченный образец смешивают с диспергатором, в качестве которого используют кварцевый песок или диатомит. Образцы с высоким содержанием воды в процессе предварительной подготовки подвергают сушке в вакуумных печах или сублимационной сушке. В отдельных случаях к анализируемой пробе добавляют предварительно очищенные осушители, например, безводный сульфат натрия. Еще одним параметром является масса образца, которую варьируют в зависимости от типа образца и объема ячейки [33]. Обычно диапазон используемых масс составляет 0.2–5 г.

К параметрам, варьируемым на этапе экстракции, относят природу растворителя и модифицирующих добавок, температуру, давление, время экстракции и количество циклов [26, 27, 30, 33–35, 36, 44]. При выборе растворителя следует учитывать растворимость в нем целевых аналитов, а также некоторые физико-химические свойства растворителя — температуру кипения, полярность, удельную плотность

(влияет на проникновение в матрицу образца), а также токсичность (создает опасность на рабочем месте). Кроме того, важно, чтобы экстракт, полученный с применением выбранного растворителя, был совместим с последующими этапами — очисткой и определением. В идеале, желательно так подобрать растворитель, чтобы в нем максимально растворялись целевые аналиты и минимально — другие соединения. В этом методе часто используют метанол, дихлорметан, гексан, ацетон, толуол, этилацетат, ацетонитрил, а также их смеси, часто в пропорциях 1 : 1 (по объему): гексан–дихлорметан, толуол–ацетон, гексан–ацетон, ацетон–дихлорметан, дихлорметан–ацетонитрил, ацетонитрил–вода, метанол–вода [41]. Кроме того, в отдельных случаях к растворителям добавляют различные модификаторы, такие, например, как поверхностно-активные вещества, которые могут изменять физико-химические свойства растворителя при повышенной температуре и оказывать влияние на растворимость [35, 36, 44]. Более подробно с примерами растворителей, которые нашли применение для экстракции самых разнообразных органических соединений из почв или осадков сточных вод, можно ознакомиться в обзорах [26–28, 33, 39, 41]; из пищевых продуктов — в обзорах [28, 30, 36, 39, 41, 44]; из растений — в обзорах [35, 36].

Важнейшими параметрами, влияющими на продолжительность, эффективность и селективность пробоподготовки методом ЖЭД, являются температура и давление. При повышении температуры изменяются свойства растворителя — вязкость, поверхностное натяжение, коэффициент диффузии, что обеспечивает лучшее проникновение растворителя в поры и между частицами матрицы и увеличивает растворимость аналитов. В качестве примера можно привести данные из обзора [27]: при повышении температуры от 50 до 150°C растворимость антрацена увеличивается в 13 раз; скорость диффузии — в 2–10 раз; вязкость 2-пропанола уменьшается в 9 раз. Однако повышение температуры может вызвать деградацию термолабильных аналитов, особенно в сочетании с длительным временем экстракции, а также снизить селективность экстракции за счет совместной экстракции некоторых мешающих веществ. Диапазон температур, используемых в этом методе, колеблется от 50 до 150°C, а наиболее часто используемая температура составляет 100°C [41]. Эта температура превышает точку кипения большинства известных органических растворителей и достаточно низка, чтобы избежать деградации аналитов и/или совместно экстрагируемых веществ. Основная функция повышения давления заключается в сохранении растворителя в жидком состоянии при повышенных температурах, намного превышающих точку кипения. Увеличение давления также способствует проникновению растворителя в поры матрицы, которых он обычно не достигает в нормальных условиях [33, 36]. Аппаратура для проведения жидкостной экстракции под давлением позволяет изменять давление в диапазоне от 35 до 200 атм [41, 44]. Из сравнения данных, приведенных в таблицах в обзорах [33, 36, 41, 44], видно, что для каждого образца и группы аналитов давление подбирается индивидуально, но в большинстве случаев его устанавливают на уровне 100 атм.

При проведении ЖЭД в статическом режиме взаимосвязанными параметрами, которые также сильно влияют на эффективность экстракции, являются время экстракции и число циклов [33, 41, 44]. Время экстракции определяется как время, в течение которого растворитель находится в контакте с матрицей при выбранных давлении, температуре и скорости потока; его оптимизируют в зависимости от матрицы, экстрагируемых аналитов и режима экстракции [44]. Обычно этот параметр устанавливают на уровне 3–15 мин. Число циклов — это число раз, когда свежий растворитель попадает в ячейку и контактирует с образцами [33]. Оборудование обычно способно выполнить до пяти циклов, но чаще всего используют не более трех, так как после нескольких циклов может снизиться селективность

экстракции. В динамическом режиме осуществляется непрерывный поток экстрагирующего растворителя с соответствующей скоростью через ячейку, что обеспечивает короткое время контакта между образцом и растворителем, тем самым улучшая массоперенос. Однако этот тип экстракции используется редко, в основном из-за более высокого расхода растворителя по сравнению со статическим процессом [44].

Как следует из литературных данных, до начала экстракции и после ее окончания фиксируют еще три параметра, несмотря на то, что они напрямую не влияют на эффективность экстракции — время предварительного нагрева, объем промывки и время продувки [33, 36, 44]. Время предварительного нагрева — это время, в течение которого ячейка выдерживается в печи при выбранной температуре перед добавлением растворителя; чтобы обеспечить фиксированную температуру ячейки, обычно бывает достаточно 5 мин. Объем промывки — это процент свежего объема, введенного в ячейку по истечении времени экстракции и необходимого для перемещения аналитов в сосуд для сбора. В большинстве случаев этот объем составляет 60% от объема растворителя, используемого на стадии экстракции. И, наконец, третьим параметром является время продувки ячейки газообразным азотом; это время варьируют в пределах 30–300 с.

Как уже упоминалось выше, селективность извлечения органических соединений в методе жидкостной экстракции под давлением невысокая, поэтому для получения более чистых экстрактов, пригодных для последующего анализа хроматографическими методами, требуется этап очистки. Самым простым с точки зрения времени и автоматизации является прием, в котором извлечение и очистка происходят на одном этапе. Такой вариант ЖЭД получил название селективной жидкостной экстракции под давлением (selective pressurized liquid extraction, SPLE) [32, 38]. В этом варианте метода очистка достигается путем добавления слоя сорбента/сорбентов или реагентов, которые удерживают мешающие соединения (обычно жиры, белки или пигменты), непосредственно в экстракционную ячейку. В процессе экстракции целевые аналиты извлекаются из образца, а нецелевые вещества остаются в ячейке на этих твердых фазах. Наиболее широко применяемыми материалами для очистки являются Флорисил, силикагель (кремнезем) в различных вариантах (кислотный, основной, нейтральный, активированный или нет, модифицированный октадецильными группами, обработанный нитратом серебра или медью), оксид алюминия и графитированный углерод. Примеры использования селективной жидкостной экстракции под давлением приведены в обзорах [32, 38, 40, 41, 43]. Среди других методов

очистки, подробно описанных в обзорах [41, 42], можно выделить офлайн очистку с помощью колоночной хроматографии, а также твердофазную экстракцию (ТФЭ), твердофазную микроэкстракцию и ряд других методов, нашедших применение для очистки жидких образцов.

Анализ обзорных работ, проведенный в рамках настоящего обзора, указывает на то, что жидкостная экстракция под давлением — автоматизированный метод быстрой пробоподготовки твердых или полутвердых проб — нашла широкое применение в серийном химическом анализе. Этот метод применяют для выделения нелетучих и среднелетучих органических соединений из объектов окружающей среды [26–28, 31, 33, 34, 39, 40, 41, 43], пищевых продуктов [27, 30, 34–36, 39, 41, 44] и растений [35, 42]. Обращает на себя внимание тот факт, что в начальный период развития этот метод применяли в основном для выделения хлорорганических пестицидов, полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), полихлорированных бифенилов (ПХБ), дибензофуранов, дибензо-*n*-диоксинов и других стойких органических загрязнителей (СОЗ) [26–28, 30, 31]. Со временем наряду с выделением СОЗ этот метод все чаще стали применять для экстракции пестицидов различных классов и лекарственных веществ, средств личной гигиены, микотоксинов, антипиренов и многих других органических соединений [34–36, 39, 41, 44]. В таблицах, приведенных в цитируемых выше обзорах, указаны не только анализируемые объекты и аналиты, но также дана информация о доэкстракционной обработке проб и подготовке экстракционных ячеек, экстракционном растворителе и его объеме, способах очистки экстрактов, а также о таких задаваемых параметрах, как температура, давление, время, число циклов, объем растворителя для промывки, время продувки азотом.

Экстракция субкритической водой (ЭСКВ, subcritical water extraction, SWE), известная также как экстракция горячей водой под давлением (pressurized hot water extraction, PHWE) или экстракция перегретой водой (superheated water extraction), представляет собой разновидность жидкостной экстракции под давлением, в которой в качестве растворителя используют воду, нагретую до 100–300°C под давлением 30–50 атм, т.е. находящуюся в субкритическом состоянии. Этому методу пробоподготовки посвящены обзоры [45–57] (табл. 1).

При повышенной температуре и достаточном давлении для поддержания воды в жидком состоянии наблюдаются кардинальные изменения ее физико-химических свойств [45, 46, 50–55]. Эти изменения проявляются в уменьшении диэлектрической проницаемости, вязкости и поверхностного натяжения. Так, например,

диэлектрическая проницаемость (ϵ) воды при изменении температуры от 25 до 250°C и давлении 50 атм снижается от 80 до 27 и становится сопоставимой с диэлектрической проницаемостью метанола ($\epsilon = 33$) и этанола ($\epsilon = 24$) при 25°C [50]. В этих условиях вода, подобно органическим растворителям, способна растворять различные органические соединения. Кроме того, за счет уменьшения поверхностного натяжения и вязкости субкритическая вода лучше смачивает и глубже проникает в твердые образцы, улучшая кинетику диффузии и массопереноса аналита [53]. В обзоре [47] подчеркивается, что субкритическая вода является идеальным экологически чистым растворителем и используется во многих лабораториях как для экстракции, так и в качестве элюента для обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Впервые субкритическую воду применили для извлечения ПАУ, ПХБ, фенолов, пестицидов и других веществ из осадочных пород, почв и взвесей в середине 1990-х годов, ссылки на эти первые работы приведены в обзорах [28, 45]. Уже в первых работах было показано, что диэлектрическую проницаемость субкритической воды, а значит и ее растворяющую способность, можно изменять в широком диапазоне, варьируя температуру и давление, что позволяет использовать этот метод для экстракции не только полярных, но и неполярных аналитов. Со временем появились работы, описывающие механизм субкритической экстракции, они систематизированы в обзорах [48, 50, 52, 54, 55]. Предполагают, что процесс извлечения субкритической водой включает несколько последовательных стадий: десорбцию аналитов с различных активных центров матрицы образца в условиях повышенного давления и температуры; их диффузию в экстракт; элюирование растворенных веществ из экстракционной ячейки. Скорость экстракции ограничена самой медленной из этих стадий. Показано, что экстрагирование компонентов из многих твердых объектов определяется в первую очередь десорбцией микрокомпонентов с поверхности твердой матрицы. В статическом режиме за время проведения эксперимента в системе “образец–растворитель” устанавливается равновесие, которое можно описать в рамках простой термодинамической модели, согласно которой степень извлечения прежде всего зависит от коэффициента распределения микрокомпонента. Механизм экстракции в динамических условиях описывается в рамках теории фронтальной хроматографии, включающей две стадии массопереноса: десорбцию микрокомпонента с поверхности матрицы и элюирование.

Экстракцию субкритической водой проводят преимущественно на лабораторных установках, созданных на базе серийного

хроматографического оборудования. Блок-схемы лабораторных установок для проведения субкритической экстракции в статических или динамических условиях приведены в обзорах [48–50, 54, 55, 57]. Они состоят из нагреваемых элементов – экстракционной ячейки и входного капилляра для прогрева воды до рабочей температуры (его длина обычно составляет 1.5 м и более), которые помещают в печь. В большинстве случаев используют печь, входящую в состав газового хроматографа. На выходе из ячейки, вне печи устанавливают ограничитель давления, поддерживающий воду в жидком состоянии при температуре выше 100°C. Для более эффективного охлаждения экстракта выходной капилляр помещают в емкость с холодной водой или другое охлаждающее устройство. Кроме того, для проведения экстракции в статическом режиме можно использовать и серийное оборудование для жидкостной экстракции под давлением, например установку Dionex ASE 200 [48, 54]. Технические решения, описывающие возможные сочетания динамического варианта субкритической экстракции с последующим хроматографическим определением, приведены в обзорах [49, 54, 57].

Основные параметры, которые варьируют в процессе разработки методик, подробно обсуждены в обзорах [48–52, 54–56]. К ним относятся температура, давление, время, природа и концентрация добавок-модификаторов, скорость потока в динамическом варианте, размер частиц образца. Как уже обсуждалось выше, температура влияет на диэлектрическую проницаемость воды, на растворимость микрокомпонента и его коэффициент распределения. При повышении температуры также снижется вязкость воды, что приводит к увеличению скорости диффузии микрокомпонентов и, соответственно, скорости массопереноса. В обзорах приведены примеры, указывающие на то, что при повышении температуры до 300°C увеличивается растворимость и извлечение ПАУ, фенольных соединений и пестицидов [45, 49, 54]. Однако некоторые соединения, например многие биологически активные вещества, могут быть термически нестабильными, окисляться и разлагаться в агрессивной среде субкритической воды; в этом случае при выборе температуры идут на компромисс – несмотря на снижение степени извлечения, проводят экстракцию при достаточно низких температурах [48, 51]. Для поддержания воды в жидком состоянии давление варьируют от 10 до 80 атм. Так, например, при 200 и 300°C вода остается в жидком состоянии, если давление равно 15 и 85 атм соответственно. В отличие от температуры, давление существенно не влияет на степень извлечения аналитов. Эффект более высокого давления, используемого при проведении

субкритической экстракции, по сравнению с экстрагированием при атмосферном давлении, проявляется в увеличении скорости экстракции, так как субкритическая вода под давлением способна проникать в труднодоступные участки матрицы образца. Время экстракции варьируют в зависимости от температуры экстрагента, природы матрицы образца и извлекаемых микрокомпонентов. В большинстве случаев повышение температуры уменьшает время, необходимое для количественной экстракции. При экстрагировании в динамическом режиме повышение скорости пропускания экстрагента часто увеличивает степень извлечения микрокомпонентов из-за поддержания высокого градиента концентраций. Скорость пропускания субкритической воды выбирают, исходя из заданной продолжительности обработки образца и желаемой концентрации аналитов в экстракте. Показано, что увеличение скорости целесообразно, когда экстрагирование ограничено растворимостью извлекаемых веществ, диффузией экстрагента в матрицу образца и скоростью переноса аналита с поверхности матрицы [54]. Для увеличения степени извлечения аналитов в воду вводят добавки органических растворителей (метанола, этанола, этилацетата) или таких ПАВ, как додецилсульфат натрия и Triton X-100 [48–50, 52, 54]. Эти вещества обычно используются для повышения растворимости аналитов в воде или для усиления взаимодействия воды с аналитами. Они также могут изменять физико-химические свойства воды при повышенной температуре, критическую температуру и давление.

Еще одним фактором, влияющим на степень извлечения, является размер частиц образца [51, 52, 55, 56]. Как и в случае жидкостной экстракции под давлением, описанной выше, при меньших размерах частиц увеличивается степень выделения соединений, тогда как в случае более крупных частиц уменьшается эффективность и увеличивается время экстракции. В некоторых случаях в образец в экстракционном сосуде вводят диспергаторы (например, стеклянные шарики), которые способствуют равномерному распределению образца и экстрагента и повышают эффективность экстракции. Напротив, геометрия экстракционной ячейки или сосуда и направление потока воды оказывают лишь незначительное влияние на извлечение целевых аналитов.

Благодаря нетоксичности, негорючести и доступности субкритическая вода в последнее время находит все более широкое применение для выделения различных биологически активных веществ из природных продуктов [48, 51–53, 55–57]. Авторы одного из последних обзоров [57] проанализировали более 200 публикаций за период с 2004 по 2021 гг. по этой тематике,

из которых около 160 были опубликованы за последнее десятилетие. В обзоре приведены условия экстракции флавоноидов, полифенолов, органических кислот, гликозидов, углеводов, эфирных масел, алкалоидов, хинонов, терпенов, лигнанов и стероидов из различных образцов растительного происхождения (лекарственных трав, овощей, фруктов, водорослей, чайных листьев, зерен и семян). Субкритическую экстракцию упомянутых выше биологически активных соединений проводят при температуре от 120 до 200°C как в статическом, так и в динамическом режиме с последующим определением выделенных аналитов различными хроматографическими методами. С условиями выделения ПАУ, ПХБ, хлорфенолов, пестицидов из почв, осадков и других объектов окружающей среды можно ознакомиться в обзорах [28, 45, 49, 50, 54].

Сверхкритическая флюидная экстракция (СФЭ, supercritical fluid extraction, SFE) основана на использовании в качестве экстрагентов сверхкритических флюидов. Принцип метода и особенности его применения в химическом анализе освещены в обзорах [56, 58–78] (табл. 1). Для получения сверхкритических флюидов в этом методе используют диоксид углерода, оксид азота(I), этан, пропан, *n*-пентан, аммиак, фтороформ, гексафторид серы или различные фреоны. Их свойства описаны в обзорах [58, 60, 61, 69, 70, 71]. Из всех изученных веществ диоксид углерода до сих пор остается наиболее часто используемым экстрагентом в СФЭ, что связано с рядом его уникальных свойств. Помимо достаточно низкой критической температуры (31°C) и давления (73 атм) [61], CO₂ негорюч, невзрывоопасен, нетоксичен, доступен по низкой цене и обладает высокой чистотой. Немаловажным является и тот факт, что в нормальных условиях CO₂ – газ. После проведения экстракции очистка продукта от растворителя достигается простым сбросом давления. Сверхкритический CO₂ при этом переходит в газовую фазу и улетучивается, избавляя тем самым аналитика от необходимости проводить длительное упаривание экстракта после выделения, часто приводящее к частичной термодеструкции целевых веществ. Кроме того, CO₂ имеет низкое поверхностное натяжение и вязкость, но коэффициент диффузии в два-три раза выше, чем у других жидкостей. С точки зрения полярности, CO₂ в сверхкритической области подобен пентану и поэтому пригоден для экстракции липофильных веществ. Основным недостатком CO₂ является низкое извлечение полярных веществ, однако этот недостаток легко устраняют путем добавления различных модификаторов [56, 58, 60, 65, 69, 76].

Сверхкритическая флюидная экстракция имеет много общего с рассмотренными выше

жидкостной экстракцией под давлением и экстракцией субкритической водой за исключением того, что в качестве экстрагента в этом методе используется сверхкритическая жидкость, а не органические растворители или вода. Основное преимущество СФЭ заключается, как отмечено выше, в том, что после экстракции экстракционный растворитель превращается в газ, а определяемые вещества удобно концентрировать в твердофазной ловушке или жидкости, что подробно описано в обзоре [66]. Кроме того, этот метод отличается более высокой селективностью, что можно отнести в зависимости от целей пробоподготовки как к достоинствам, так и к недостаткам метода. Другие проблемы, связанные с СФЭ, включают высокую стоимость автоматизированных приборов, относительно небольшие размеры образцов и более сложный процесс разработки методик [58, 61].

Сверхкритическая флюидная экстракция, как правило, осуществляется в проточном либо в периодическом проточно-стационарном режиме. Типичная блок-схема оборудования для СФЭ приведена в обзорах [59, 68, 69, 72]. Она включает экстракционную ячейку, которая оснащена регуляторами температуры и клапанами давления на обоих концах для поддержания желаемых условий экстракции, насос для подачи CO₂ в экстракционную систему, иногда насос для подачи модификатора и один или несколько сепараторов, так называемых ячеек для фракционирования, в которых собирается экстракт и сбрасывается давление для удаления растворителя.

Перечень экспериментальных параметров, влияющих на эффективность СФЭ, достаточно большой, он включает характеристики сверхкритического флюида (с модификаторами и без них) и твердой матрицы; термодинамические и кинетические условия проведения экстракции (температура, давление, плотность и скорость потока); содержание воды; размер частиц образца; физические и химические свойства целевых аналитов [59–62, 68–72, 74]. Теоретические модели, описывающие СФЭ веществ из различных твердых матриц, рассмотрены в обзорах [68, 70, 73, 75].

В аналитической практике СФЭ нашла применение для выделения ПАУ, диоксинов, пестицидов, лекарственных веществ, биологически активных соединений и многих других органических соединений из почв и отложений [59, 60, 63, 66, 68, 70], пищевых продуктов [62, 63, 66, 70, 72, 77], растений [62, 63, 72, 74, 77], объектов судебно-медицинской экспертизы [64, 72, 76], а также для извлечения веществ из сорбционных трубок, картриджей или мембранных дисков после сорбционного концентрирования [59]. Особенности онлайн сочетания пробоподготовки

с помощью СФЭ со сверхкритической флюидной хроматографией и другими хроматографическими методами посвящены обзоры [59, 64, 77, 78].

МАТРИЧНАЯ ТВЕРДОФАЗНАЯ ДИСПЕРСИЯ

Матричная твердофазная дисперсия (МТФД) или метод дисперсии матрицы твердым сорбентом (matrix solid phase dispersion, MSPD) был предложен в 1989 г. для извлечения лекарственных веществ из тканей животных [79]. Суть метода заключалась в диспергировании анализируемого образца в присутствии подходящего сорбента, перенесении полученной гомогенной массы в колонку или картридж и последующем элюировании целевых аналитов выбранным растворителем. Быстрому развитию метода способствовало то, что он не требует специального оборудования и является простой и дешевой процедурой подготовки проб в мягких условиях (комнатная температура и атмосферное давление), которую можно легко реализовать в любой лаборатории. За период с момента возникновения метода опубликован ряд обзоров [40, 80–95] (табл. 2). В настоящее время матричную твердофазную дисперсию применяют для выделения органических соединений из твердых и жидких проб пищевых продуктов и продовольственного

сырья как с высоким, так и с низким содержанием жира, из фруктов и растений, а также из твердых объектов окружающей среды.

Принцип метода подробно описан в нескольких первых обзорах [80, 81, 83], а в обзорах [82, 84, 85] освещены его теоретические аспекты. Историческая справка о развитии метода в разные периоды представлена в [85, 94, 95]. Так, в обзоре 2023 г. [95] отмечается, что за период с 1989 г. по июнь 2022 г. было опубликовано более 840 статей, в названии, аннотации или ключевых словах которых использовался термин “MSPD”, причем особенно заметный рост интереса к использованию этого метода подготовки проб перед хроматографическим определением наблюдается в последние 15 лет.

С особенностями пробоподготовки по оригинальному варианту метода, который включает три основных этапа, можно ознакомиться в обзорах [40, 82–84, 88, 89, 93]. Первый этап заключается в ручном смешивании пробы с заранее выбранным диспергирующим сорбентом или смесью сорбентов. Это механический этап, который обычно выполняется стеклянным пестиком в стеклянной или агатовой ступке, поскольку пористые материалы, такие как фарфор, могут привести к потерям аналита и/или образца [82]. В ряде случаев на этом этапе к смеси добавляют модификаторы матрицы и осушители, а также вводят внутренние

Таблица 2. Хронология обзоров, посвященных матричной твердофазной дисперсии и методу QuEChERS

Год	Тематика обзора	Литература
Матричная твердофазная дисперсия (МТФД)		
1993	Общие аспекты МТФД: основные принципы и ранние приложения в пробоподготовке объектов окружающей среды	[80]
2000	МТФД в анализе пищевых продуктов	[81]
	Теоретические основы МТФД и ранние приложения	[82]
2003	Применение МТФД в пробоподготовке пищевых продуктов и растений перед ВЭЖХ определением	[83]
2006	МТФД: способы осуществления, параметры, влияющие на эффективность и селективность экстракции, миниатюризация	[84]
2007	МТФД: принцип, способы осуществления, экспериментальные параметры	[85]
	МТФД для выделения органических соединений из пищевых продуктов	[86]
2008	МТФД: достижения, преимущества и ограничения; сравнение с другими способами пробоподготовки	[87]
2009	Теоретические аспекты МТФД и примеры применения	[88]
2010	МТФД: принцип метода, новые сорбенты, примеры применения за период 2000–2010 гг.	[89]
2013	МТФД для выделения пестицидов, лекарственных веществ и других органических соединений из пищевых продуктов и растений за период 2009–2013 гг.	[90]
2015	МТФД: обзор литературы за период 2012–2014 гг. о новых сорбентах и способах осуществления	[91]

Таблица 2. Окончание

2018	Развитие МТФД за период 2015–2018 гг.: новые сорбенты, миниатюризация, онлайн сочетание с методами определения	[92]
2019	Использование новых специально разработанных материалов для МТФД	[93]
	Новые взгляды на применение МТФД в различных областях аналитической химии	[94]
2023	Прогресс в развитии МТФД за период 2019–2022 гг.: новые сорбенты, растворители, миниатюризация; на примере выделения органических соединений из пищевых продуктов и объектов окружающей среды	[95]
Метод QuEChERS		
2010	Первая систематизация сведений о методе QuEChERS	[97]
2011	Обзор ранних работ по применению метода QuEChERS для определения остатков пестицидов во фруктах, овощах и продуктах с высоким содержанием жира	[98]
2014	Первый обзор по применению метода QuEChERS в пробоподготовке объектов окружающей среды; на примере выделения различных органических соединений из почв рассмотрена эволюция развития метода QuEChERS	[99]
2015	Обзор наиболее важных модификаций метода QuEChERS (включая экстракцию и очистку) и различных групп соединений, к которым он был применен	[100]
	Обсуждены новые тенденции и перспективы QuEChERS. Примеры применения метода для выделения пестицидов, ветеринарных лекарств, микотоксинов, ПАУ, красителей, природных соединений	[101]
2016	Применение метода QuEChERS для выделения лекарственных веществ с последующим определением методом ГХ-МС	[102]
	Обзор работ, посвященных применению метода QuEChERS для выделения пестицидов из почв, сравнение с другими методами пробоподготовки	[103]
	Особенности сочетания пробоподготовки по методу QuEChERS при определении пестицидов с различными хроматографическими детекторами для ГХ и ВЭЖХ	[104]
2018	Последние модификации и валидация QuEChERS в сочетании с определением методами ЖХ-МС и ГХ-МС для определения остатков пестицидов/агрохимикатов во фруктах и овощах	[105]
2019	Применение метода QuEChERS для выделения остатков антибиотиков из пищевых продуктов	[106]
	Обзор наиболее актуальных применений метода QuEChERS в анализе пищевых продуктов, экологических и биологических объектов за период 2015–2019 гг.	[107]
	Обновленная информация о применении метода QuEChERS для выделения пестицидов из пищевых продуктов за период 2012–2018 гг.	[108]
	Обзор работ, посвященных применению метода QuEChERS для многокомпонентного выделения пестицидов из различных видов фруктов, за период 2011–2019 гг.	[109]
	Обновленный обзор последних разработок и применений метода QuEChERS к различным анализам и матрицам QuEChERS – основы, улучшения, приложения и тенденции	[110]
	Применение метода QuEChERS для выделения стойких органических загрязнителей, ПАУ и фармацевтических препаратов	[111]
	Применение метода QuEChERS для выделения пестицидов из почв	[112]
2022	Новый подход QuEChERSER и его преимущества перед QuEChERS	[113]
2023	Применение наноматериалов в усовершенствованном методе QuEChERS	[114]
	Обновленный обзор применения QuEChERS в анализе пищевых продуктов, объектов окружающей среды и биологических объектов (2020–2023 гг.)	[115]
2024	Применение метода QuEChERS для выделения микотоксинов из пищевых продуктов	[116]

стандарты. В процессе перемешивания нарушается структура образца и происходит его равномерное распределение на частицах сорбента. Процедуру выполняют до получения сухого, гладкого, однородного, сыпучего порошка. Стадия смешивания обычно занимает 0.5–15 мин. На втором этапе полученную гомогенную порошкообразную смесь количественно переносят в пустой шприц или картридж для ТФЭ, в нижнюю часть которых предварительно помещают сорбент для очистки экстракта, и уплотняют. На заключительном третьем этапе целевые аналиты элюируют подходящим растворителем. В некоторых случаях перед использованием элюента колонку или картридж промывают деионизованной водой, растворами слабых кислот, буферными растворами для удаления нежелательных соединений или гексаном для удаления жиров [40]. В качестве сорбентов для диспергирования образца в оригинальном варианте метода используют химически модифицированные кремнеземы: гидрофобизированные силикагели C8 и C18, BondeSil C18, BondeSil NH2 и др., которые часто применяют вместе с модификаторами смешивания (кислоты, основания, соли или ЭДТА). В качестве сорбентов для очистки используют SiO_2 , Al_2O_3 или Флорисил (синтетический силикат магния), а осушителем служит Na_2SO_4 .

Со временем процедура пробоподготовки по этому методу была модифицирована за счет использования дополнительных источников

энергии, таких как ультразвук, микроволновое излучение, вихревое воздействие (перемешивание) или магнитное поле. Модифицированные варианты метода получили название матричной твердофазной дисперсии с помощью ультразвука (UA-MSPD), микроволнового излучения (MWA-MSPD), с использованием вихревого перемешивания (VA-MSPD) и матричной твердофазной дисперсии с магнитным сорбентом (MA-MSPD) [91–95]. Пробоподготовка с помощью модифицированных вариантов метода в ряде случаев позволяет не только сократить время экстракции, но и уменьшить количество пробы, необходимое для анализа, а также расход используемых органических растворителей. Способы осуществления пробоподготовки методом матричной твердофазной дисперсии по оригинальному и модифицированным вариантам схематически представлены на рис. 2 [92]. Единичные примеры сочетания матричной твердофазной дисперсии с жидкостной экстракцией под давлением приведены в обзорах [40, 84, 85]. Еще одним направлением развития метода в последние годы является его миниатюризация, которая стала возможной за счет использования очень чувствительных методов обнаружения. В обзорах [84, 92, 95] приведены примеры разработанных микро/мини вариантов метода, в которых масса анализируемых образцов снижена с общепринятых 0.5 г до 25–100 мг, а в отдельных случаях до 0.3–3 мг.

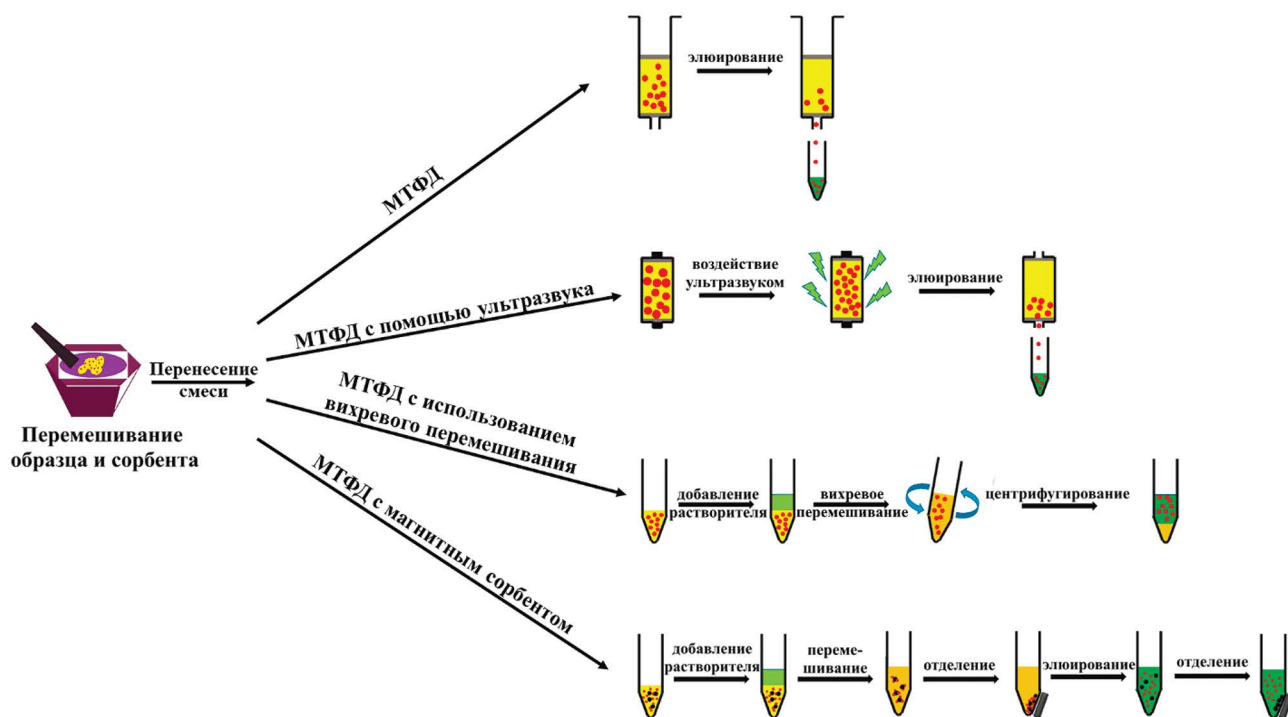


Рис. 2. Варианты проведения матричной твердофазной дисперсии (МТФД) [92].

Экспериментальные параметры, влияющие на метод матричной твердофазной дисперсии, систематизированы в ряде обзоров [82, 84, 85, 87, 91, 93]. Отмечается, что к основным параметрам, влияющим на селективность и эффективность процесса пробоподготовки, относятся природа диспергирующего сорбента и размер его частиц, соотношение массы образца и массы сорбента, природа и объем растворителя на этапе элюирования. Кроме того, при разработке методик следует учитывать и другие аспекты, такие как продолжительность смешивания, возможность введения небольшого объема выбранного растворителя на этапе измельчения для облегчения разрушения матрицы, использование дополнительного сорбента для очистки (так называемого косорбента), возможность использования дополнительной стадии для дальнейшей очистки элюата.

Как уже упоминалось выше, в качестве материалов для диспергирования образца в оригинальном варианте метода используют обращенно-фазовые сорбенты, такие как химически модифицированные кремнеземы C18 и C8, сорбенты с фенильными, циано- и аминогруппами, которые не только разрушают структуру образца, но и выступают в качестве “связанного” растворителя, способствующего полному разрушению и диспергированию образца [85, 89]. С применением электронной микроскопии доказано, что на поверхности химически модифицированных кремнезёмов образуется особая фаза смешанного характера толщиной около 100 мкм, в которой за счет гидрофобных и гидрофильных взаимодействий удерживаются компоненты матрицы [82]. До настоящего времени химически модифицированные кремнеземы чаще всего используют в прикладных исследованиях, связанных с пробоподготовкой не только биологических образцов и пищевых продуктов, но и твердых объектов окружающей среды, например пыли [93, 95].

Другими традиционными диспергирующими материалами являются нормально-фазовые сорбенты, такие как оксид алюминия, диоксид кремния и Флорисил (синтетический силикат магния) [85, 87, 89]. Очевидно, что нормально-фазовые сорбенты неспособны растворить матрицу образца, как это происходит в случае обращенно-фазовых сорбентов. Целевые, полярные аналиты удерживаются на поверхности этих сорбентов за счет различных типов взаимодействий сорбат–сорбент, преимущественно образования водородных связей [87].

В отдельных случаях на этапе гомогенизации образца применяют более дешевые инертные твердые материалы – морской песок, целит или диатомит, которые вызывают механическое разрушение образца без способности

солюбилизовать или адсорбировать компоненты, как это происходит с обращенно- или нормально-фазовыми сорбентами. Селективность процесса при использовании инертных материалов определяется лишь растворимостью различных компонентов пробы в элюирующем растворителе [87, 89, 93].

Последние тенденции в совершенствовании метода матричной твердофазной дисперсии базируются на применении новых, более селективных и эффективных сорбентов. Сравнительная характеристика новых сорбентов, нашедших применение для диспергирования матрицы, включающая преимущества, ограничения, возможные взаимодействия и области применения, дана в обзоре [95]. В обзорах [91–93, 95] приведены многочисленные примеры, указывающие на то, что селективность метода удается повысить за счет применения полимеров с молекулярными отпечатками. С информацией о применении углеродных нанотрубок, графена и других наноматериалов и композитов на основе углерода можно ознакомиться в обзорах [91, 93, 95]. И наконец, в обзорах [91, 93] приведены примеры применения в МТФД магнитных наносорбентов, а в обзоре [65] – первые примеры применения металлоорганических каркасов, нанолитов нитрида бора, каликсаренов и кукурбитурила.

Размер частиц сорбента оказывает влияние на стадии элюирования. Очень маленькие частицы сорбента (3–20 мкм) приводят к увеличению времени элюирования и необходимости применения избыточного давления или вакуума. Обычно в этом методе рекомендуют использовать частицы сорбента или другого диспергирующего материала размером 40–100 мкм. Что касается соотношения масс образца и сорбента, то в большинстве методик оно варьирует от 1 : 1 до 1 : 4, а наиболее часто применяемое массовое соотношение составляет 1 : 4. В оригинальном варианте метода рекомендуемая масса образца составляла 0.5 г, сорбента-диспергента – 2 г, а сорбента для очистки – 0.5 г [83, 85].

Выбор промывающих и элюирующих растворителей очень важен для достижения полноты извлечения и получения чистых экстрактов [40, 87, 93, 95]. В ряде случаев для удаления нежелательных соединений перед использованием элюента колонку или картридж промывают 1–2 мл специально подобранного дополнительного растворителя на каждые 100 мг смеси сорбент–образец. Выбор этого растворителя зависит от характера мешающих компонентов, если они заранее известны аналитику. Важно учесть, чтобы эти растворители не удаляли целевые аналиты. Хорошо растворимые соединения удаляют путем использования деионизованной воды или буферных растворов, вещества основного

характера — растворами слабых кислот, таких, например, как уксусная кислота, жиры — гексаном.

При выборе элюирующего растворителя прежде всего учитывают растворимость в нем целевых аналитов. Кроме того, элюирующий растворитель должен быть совместим с методом последующего определения. Например, для последующего ВЭЖХ-определения желательно использовать смешивающийся с водой растворитель, а для определения методом ГХ — летучий растворитель. Согласно данным, приведенным в обзорах [87, 93, 95], для элюирования аналитов с обращенно-фазовых сорбентов обычно используют ацетонитрил, метанол и их смеси, а с нормально-фазовых — гексан, метилхлорид, ацетон, этилацетат и их смеси. В качестве альтернативных растворителей в последние годы начали использовать ионные жидкости, ПАВ и глубокие эвтектические растворители. Работ в этом направлении выполнено немного, они цитируются в обзорах [40, 91, 93, 95]. Еще одним параметром, который необходимо учитывать на этапе элюирования, является объем растворителя. В оригинальном варианте метода для элюирования аналитов с колонки, заполненной 0.5 г образца и 2 г сорбента-диспергента, рекомендуют использовать 8 мл элюента [85]. Очевидно, что в зависимости от природы матрицы и используемых сорбентов этот объем может варьироваться как в меньшую, так и в большую сторону.

В обзоре 2023 г. [95] на основе наукометрического анализа 840 публикаций из базы данных Scopus отмечается, что метод матричной твердофазной дисперсии нашел применение не только в химическом анализе различных образцов (35% публикаций), но и в области биохимии, генетики и молекулярной биологии (около 20% публикаций), в области сельскохозяйственных и биологических наук (почти 10% публикаций), а также в области наук об окружающей среде, фармакологии, токсикологии, инженерии, материаловедения и медицины (вместе почти 35% публикаций). Отдельные обзоры и большие разделы в обзорах посвящены применению матричной твердофазной дисперсии для выделения и концентрирования органических соединений из объектов окружающей среды [40, 83, 86, 90, 93], пищевых продуктов [80–84, 90, 93] и растений [83, 84, 94, 95]. В этих обзорах в информативных таблицах представлена информация об условиях выделения пестицидов [40, 81, 84, 86, 95], лекарственных соединений [80–82, 84, 86, 90, 93, 94], микотоксинов [86, 90], стойких органических загрязнителей [84, 86, 93], соединений, разрушающих эндокринную систему [95], флавоноидов [91, 95] и многих других органических соединений.

МЕТОД QUECHERS

Метод QuEChERS (“Кэтчерс”, “Квечерс”) был предложен в 2003 г. в качестве нового варианта пробоподготовки фруктов и овощей с высоким содержанием влаги при определении в них пестицидов [96]. Суть метода заключалась в одновременном извлечении пестицидов (до 200 соединений) из овощей и фруктов ацетонитрилом в присутствии большого количества солей (преимущественно сульфата магния) и последующей очистке экстракта с помощью дисперсионной твердофазной экстракции с использованием аминсорбента PSA. В аббревиатуре QuEChERS заложены важнейшие достоинства метода (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe — быстро, просто, дешево, эффективно, надежно и безопасно). Метод QuEChERS позволил радикально упростить анализ овощей и фруктов при определении в них остаточных количеств пестицидов, и впоследствии его стали широко применять для извлечения самых разнообразных органических соединений из пищевых, природных, биологических и других матриц [97]. В настоящее время метод QuEChERS является основой стандартных официальных методик, рекомендованных для применения в США, Европе и других странах. Более 30 поставщиков по всему миру предлагают наборы для экстракции методом QuEChERS. Несомненно, QuEChERS стал одним из наиболее часто используемых и популярных методов анализа. По данным Web of Science, к 2020 г. опубликовано почти 4500 публикаций и большое число обзоров [97–116], которые в хронологическом порядке перечислены в табл. 2. В обзоре [101] отмечается, что QuEChERS следует рассматривать скорее как концепцию (методологию) подготовки проб, чем как конкретный метод.

Оригинальная процедура пробоподготовки по методу QuEChERS, которую первоначально использовали для выделения пестицидов из овощей и фруктов, включает в себя последовательное выполнение нескольких этапов, которые иллюстрирует рис. 3 [106]. С целью улучшения общей эффективности методики оригинальный метод QuEChERS был подвергнут нескольким модификациям, которые описаны в обзорах [99–101, 106, 107, 110] и схематически представлены на рис. 4 [110]. Первоначально эти модификации были направлены на повышение эффективности извлечения полярных и неполярных пестицидов, принадлежащих к разным классам, и заключались во введении на этапе извлечения ацетатного или цитратного буферных растворов. Следует отметить, что ацетатная и цитратная модификации QuEChERS положены в основу двух официальных методов: метода AOAC 2007.01 и официального метода Европейского

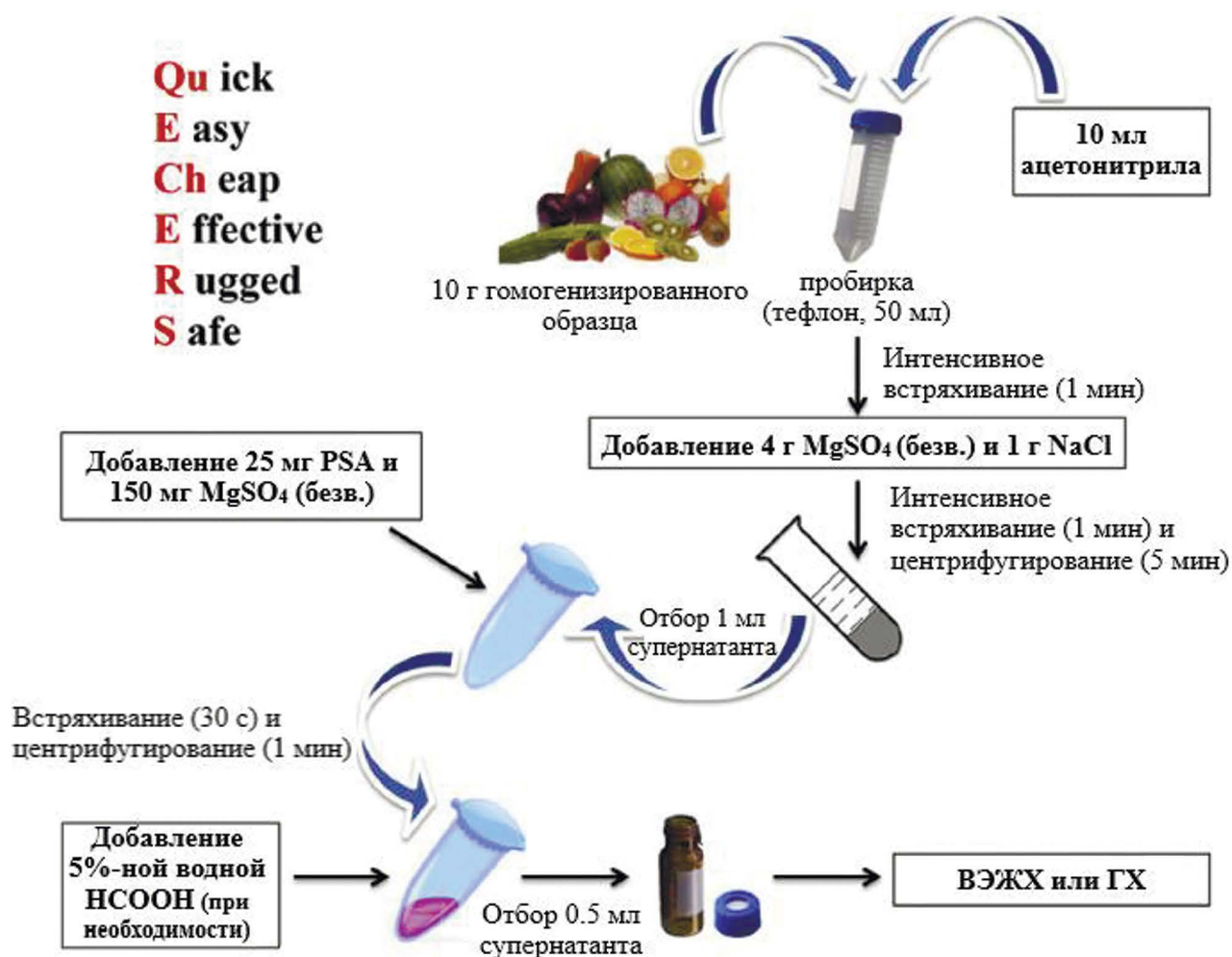


Рис. 3. Основные этапы оригинального метода QuEChERS [106].

комитета по стандартизации (Стандартный метод UNE-EN 15662, CEN2008) (рис. 4) [108, 110]. Адаптация процедуры QuEChERS под пищевые продукты со средним или высоким содержанием жира, сильно пигментированные продукты, продукты с высоким содержанием хлорофилла, а также объекты с содержанием воды менее 75–80% привела к необходимости внесения дальнейших изменений [101]. Эти изменения касались применения различных растворителей и высаливающих агентов на этапе экстракции и сорбентов на стадии очистки, а также внедрения стратегий вымораживания (рис. 4), что позволило реализовать методологию QuEChERS для многокомпонентного выделения пестицидов, микотоксинов, полифенолов, ПАУ, антибиотиков и других органических соединений из различных матриц, включая разнообразные пищевые продукты, объекты окружающей среды и биологические жидкости [107, 110].

В процессе внесения модификаций исследователи варьировали различные экспериментальные параметры, которые подробно описаны

в обзорах [100, 101, 103, 106, 111, 112]. Условно их можно разделить на параметры, варьируемые на этапах подготовки проб, экстракции и очистки. Пробоподготовка твердых образцов перед проведением процедуры QuEChERS сводится к их тщательному измельчению для увеличения площади поверхности. В зависимости от природы матрицы в эту простую процедуру вносят корректировки. Например, перед измельчением образцы с высоким содержанием жира замораживают на ночь или для получения более мелких фракций в процессе измельчения к пробе добавляют сухой лед. Как и в оригинальном методе QuEChERS, в большинстве исследований используют образцы массой 10 г, но, согласно последним данным, за счет повышения чувствительности аналитических приборов масса образца может быть уменьшена до 5, 2 и даже 1 г. [103, 112]. В обзорах [101, 103, 106, 112] приведена информация о необходимости добавления воды к пробам, если ее содержание не превышает 75–80%. Количество добавляемой воды зависит, как следует из таблиц, приведенных в обзорах [101,

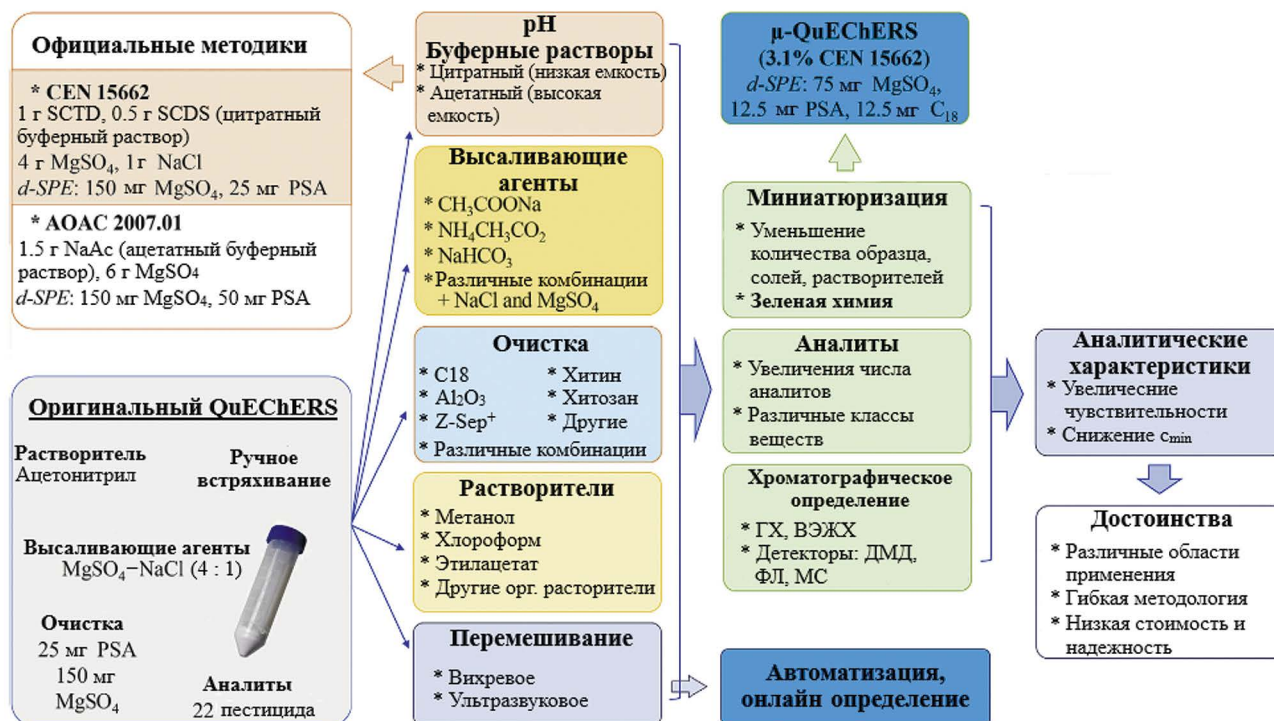


Рис. 4. Варианты улучшения протокола QuEChERS. Аббревиатуры: d-SPE – дисперсионная твердофазная экстракция, ГХ – газовая хроматография, ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография, ДМД – диодно-матричный детектор, ФЛ – флуоресцентный детектор, МС – масс-спектрометрический детектор, PSA – первичный-вторичный амин, SCDS – сесквигидрат двухосновного цитрата натрия, SCTD – дигидрат цитрата натрия трехосновный, Z-Sep – сорбенты на основе диоксида циркония, $c_{\min}$ – предел обнаружения [110].

106], от типа пищевого продукта и может равняться массе образца или превышать ее в полтора-два раза. Воду добавляют и в образцы анализируемых почв, наилучшие результаты получены при увлажнении 5 г образца 10 мл воды [103, 112].

Выбор экстракционного растворителя играет решающую роль в достижении максимального извлечения органических соединений на этапе экстракции. В зависимости от природы аналитов и поставленной задачи растворитель должен селективно извлекать определяемые вещества или группы аналитов и легко отделяться от воды. Кроме того, при выборе растворителя учитывают его совместимость с последующим хроматографическим определением, стоимость, безопасность и экологичность. В оригинальном методе QuEChERS в качестве растворителя был выбран ацетонитрил и, как показали дальнейшие исследования, ацетонитрил оказался лучшим экстракционным растворителем не только для многокомпонентного извлечения пестицидов с широким диапазоном полярности из фруктов и овощей [98, 100, 111], но и для других пищевых продуктов [98, 107, 108, 110], почв [103, 112], лекарственных веществ из пищевых продуктов [103, 112] и многих других органических соединений из природных и биологических объектов [106, 107, 110, 111]. Помимо ацетонитрила для

извлечения липофильных соединений из жировых матриц используют и другие растворители, такие как метанол, ацетон, этилацетат, смесь ацетона с гексаном или другими органическими растворителями [100, 106, 111]. Так, в обзоре [100] отмечается, что для извлечения 12 ПАУ из ветчины или 33 ПАУ из рыб удовлетворительные результаты получены при использовании этилацетата или смеси ацетона, этилацетата и изookтана соответственно, для извлечения антибиотиков из рыб использовали смесь ацетонитрила с метанолом [106], а для извлечения стойких органических загрязнителей использовали этилацетат и смесь ацетона с гексаном [111]. Помимо природы растворителя на эффективность извлечения аналитов влияет и его объем. В обзоре [106] отмечается, что в большинстве случаев идеальное соотношение растворитель/образец составляет 1 : 1, слишком малый объем приводит к неполному извлечению целевых аналитов, а чрезмерный объем увеличивает стоимость анализа.

Важную роль на этапе экстракции/разделения играют высаливающие агенты. В ходе разработки методологии QuEChERS в качестве высаливателей были протестированы самые разнообразные соли и их смеси: MgSO_4 , NaCl , Na_2SO_4 , хлорид и формиат аммония, ацетат

и цитрат натрия [100, 106, 112]. В ряде работ, перечисленных в обзоре [106], отмечается, что лучшей неорганической солью, способствующей разделению фаз жидкость–жидкость, оказался MgSO_4 , способность к обезвоживанию у которого примерно в четыре раза выше, чем у безводного Na_2SO_4 . В качестве эффективных высаливающих агентов в процессе экстракционного выделения пестицидов и большинства других органических аналитов чаще всего используют смесь MgSO_4 с NaCl в соотношении 4 : 1 [106]. Смесь MgSO_4 , NaCl и ацетата натрия в соотношении 4 : 1 : 1 обеспечила наилучшую эффективность разделения при одновременном выделении из почв 42 пестицидов и 23 других органических соединений, принадлежащих к разным классам [112]. Однако эти соли имеют тенденцию откладываться в виде твердых частиц на поверхностях источника ионов масс-спектрометра и, возможно, внутри анализатора или во входной трубке газового хроматографа, что приводит к потере производительности прибора и требует более длительного обслуживания. Поэтому в ряде случаев их заменяют на хлорид или формиат аммония [100].

К традиционным сорбентам, которые чаще всего используют на этапе очистки, относятся аминсорбент PSA (смесь первичных и вторичных аминов), C18 и графитированная сажа. Сорбент PSA обычно используют для удаления сахаров, органических и жирных кислот. Силикагель C18 эффективен для очистки экстракта от различных жиров, стероидов, гуминовых кислот и других неполярных соединений, а графитированную сажу используют для удаления пигментов (каротиноидов и хлорофилла) [103, 106, 111]. В зависимости от природы анализируемых матриц и определяемых веществ на этапе очистки перечисленные выше сорбенты могут применять совместно, часто к ним добавляют MgSO_4 [101]. Количества традиционных сорбентов и их комбинации, применяемые на этапе очистки в официальных методах AOAC и CEN 15662, приведены в обзоре [101]. Эти сорбенты находят все более широкое применение не только для очистки экстрактов овощей, фруктов [98, 105, 109], других пищевых продуктов [101, 108], почв [103, 112] при определении в них пестицидов, но и для очистки экстрактов пищевых продуктов при определении лекарственных веществ, ПАУ, других органических соединений [101, 102, 106, 111]. Кроме того, для очистки проб сложных матриц разработаны и применяются новые, альтернативные сорбенты. Приведем несколько примеров. Для селективного удаления хлорофилла из экстрактов зеленых растений вместо графитированной сажи, основным недостатком которой является уменьшение степени извлечения аналитов с плоской структурой,

предложено использовать сорбент ChloroFiltr®. Этот сорбент был протестирован при определении сотен пестицидов и гербицидов и показал снижение содержания хлорофилла более чем на 82% без потери аналитов [100, 101]. Другими новыми коммерчески доступными сорбентами являются Z-Sep и Z-Sep Plus, разработанные фирмой “Supelco” (США). Z-Sep представляет собой сорбент на основе модифицированного оксидом циркония силикагеля, а сорбент Z-Sep Plus включает диоксид циркония и C18. Эти сорбенты удаляют из экстрактов больше жиров и пигментов, чем традиционные PSA и C18, а также обеспечивают более высокую степень извлечения аналитов и лучшую воспроизводимость [101, 110]. В качестве альтернативы Z-сорбентам для улучшенного удаления жиров фирмой “Agilent” (США) разработан и производится инновационный материал EMR-Lipid (enhanced matrix removal – “улучшенное удаление матрицы”) [107, 110, 111]. Действие EMR-Lipid основано на уникальном сочетании эксклюзионных и гидрофобных взаимодействий. Согласно данным производителя, EMR-Lipid избирательно удаляет липиды основных классов из экстрактов таких жиросодержащих образцов, как авокадо и ткани животных без потерь пестицидов, ветеринарных препаратов или ПАУ.

Помимо перечисленных выше сорбентов, которые входят в состав наборов QuEChERS, выпускаемых разными фирмами, в ряде работ изучается возможность применения новых наноструктурированных сорбентов, таких как многостенные углеродные нанотрубки и их производные, магнитные наночастицы, металлоорганические каркасы, ковалентные органические каркасы, оксид графена и некоторых других. С полным перечнем наноструктурированных сорбентов, нашедших применение в методе QuEChERS, можно ознакомиться в одном из последних обзоров [114], в котором рассмотрены сильные и слабые стороны каждого наноматериала, а также обсуждены проблемы, с которыми можно столкнуться при их применении.

Анализ обзорных работ, проведенный в рамках настоящего обзора, указывает на то, что метод QuEChERS нашел широкое применение в химическом анализе в качестве эффективного способа пробоподготовки различных по составу и сложности объектов с последующим определением органических соединений хроматографическими методами. Отдельные обзоры посвящены применению метода QuEChERS для выделения пестицидов из фруктов и овощей [98, 105, 109], пищевых продуктов [101, 108] и почв [103, 112]; антибиотиков и других лекарственных веществ из пищевых продуктов [101, 102, 106]; ПАУ и других стойких органических загрязнителей из пищевых продуктов [101, 111];

микотоксинов из пищевых продуктов [116]. Пробоподготовке объектов окружающей среды, пищевых продуктов и биологических объектов по методу QuEChERS при определении в них различных органических соединений посвящены обзоры [99, 107, 108]. Особенности сочетания пробоподготовки по методу QuEChERS с последующим определением пестицидов с различными традиционными хроматографическими детекторами для ГХ и ВЭЖХ посвящен обзор [104]. В обзоре [102] на примере лекарственных веществ обсуждены особенности сочетания пробоподготовки по методу QuEChERS с последующим определением соединений методом ГХ-МС. В цитируемых выше обзорах приведены таблицы, в которых указаны анализируемые объекты и аналиты, масса пробы, экстрагенты, высаливающие агенты, сорбенты и их количество, а также приведены степени выделения аналитов и диапазоны определяемых содержаний.

В нескольких обзорах проведено сравнение метода QuEChERS с другими способами пробоподготовки твердых образцов, о которых речь шла выше [99, 103, 110, 112]. Наиболее полное такое сравнение дано в обзоре [110], где в таблице перечислены аналиты и объекты, для которых QuEChERS является эффективной альтернативой с высокой производительностью, способной обеспечить аналогичные или лучшие аналитические характеристики, включая более низкие матричные эффекты, без необходимости использования специальных устройств. Там же можно найти примеры, когда метод QuEChERS демонстрировал худшие аналитические характеристики по сравнению с другими методами пробоподготовки.

Еще одним существенным преимуществом метода является то, что он позволяет за один прием одновременно извлечь с высокой эффективностью очень большое число аналитов, принадлежащих к разным классам. Так, в обзоре [110] в качестве примера обсуждается возможность одновременного выделения из кардамона 243 пестицидов и 137 ветеринарных препаратов и их метаболитов из рыб. В обзоре [112] приведена ссылка на оригинальную работу, указывающую на возможность одновременного выделения из почв 225 пестицидов совместно с 80 другими органическими соединениями. Важно отметить, что метод QuEChERS отвечает большинству требований, предъявляемых к зеленым аналитическим методам, поскольку при его использовании снижается потребление токсичных растворителей и реагентов и образуется гораздо меньше отходов.

В обзоре [113], написанном одним из разработчиков метода QuEChERS, описываются и объясняются изменения, внесенные в этот метод, которые привели к развитию метода

QuEChERSER, в аббревиатуру названия которого добавлены термины “Efficient and Robust” (действенно и надежно). Автор отмечает, что метод QuEChERSER следует рассматривать как “мега-метод”, который охватывает более широкий спектр полярных и неполярных аналитов в образцах различных типов. Отмечается, что появление QuEChERSER стимулировало развитие хроматографического аналитического оборудования с масс-спектрометрическим детектированием. Очевидно, что наиболее действенным способом повышения эффективности работы аналитической лаборатории является сокращение числа методов, необходимых для анализа одного и того же перечня веществ. Например, для мониторинга пестицидов, загрязняющих веществ окружающей среды, ветеринарных препаратов и микотоксинов в соответствующих пищевых продуктах обычно используются четыре отдельных метода, но с помощью QuEChERSER один и тот же образец может быть подготовлен одним и тем же методом для выявления загрязняющих веществ во всех видах пищевых продуктов. В обзоре приведена таблица, в которой сравниваются изменения, внесенные в QuEChERSER по сравнению с QuEChERS на этапе пробоподготовки, экстракции и очистки. Отмечается, что большое внимание следует уделять измельчению образцов, которое нужно проводить с помощью жидкого азота. Поскольку современные аналитические приборы способны обеспечить на порядки более низкие пределы обнаружения, чем во времена разработки QuEChERS, разработчики QuEChERSER рекомендуют, с одной стороны, уменьшать массу анализируемых проб до 1–5 г, а с другой — увеличивать объем экстрагента. Так, например, для извлечения остатков ветеринарных препаратов из 2 г пищевых продуктов животного происхождения в качестве экстрагента рекомендуют использовать 10 мл смеси ацетонитрил–вода в соотношении 4 : 1 (по объему). Более того, такое соотношение растворителя к образцу (5 мл/г) позволяет за один прием количественно извлекать из различных матриц не только ветеринарные препараты, но и пестициды, микотоксины и другие загрязняющие вещества органической природы. Сведения о других изменениях можно получить как из текста, так и из информативной таблицы, приведенной в этом обзоре. Кроме того, в обзоре обсуждаются современные подходы к автоматизации пробоподготовки по методу QuEChERSER.

Таким образом, из двух частей обзора литературы по методам выделения органических соединений из твердых образцов можно сделать

следующие выводы. Подготовка твердых проб, включая жидкостную экстракцию, является неизбежным и одним из наиболее важных этапов любого анализа. Этот этап во многом определяет правильность анализа в целом, поэтому к нему следует относиться с максимальным вниманием. Для выделения органических соединений из твердых матриц чаще всего используют жидкостную экстракцию при встряхивании, экстракцию в аппарате Сокслета, ультразвуковую экстракцию (УЗЭ), микроволновую экстракцию (МВЭ), жидкостную экстракцию под давлением (ЖЭД), экстракцию субкритической водой (ЭСКВ), сверхкритическую флюидную экстракцию (СФЭ), матричную твердофазную дисперсию (МТФД) и метод QuEChERS. На рис. 5 в виде диаграммы представлено общее число обзоров, опубликованных по каждому из этих методов за период, прошедший с момента возникновения метода и по настоящее время, и число обзоров, опубликованных за последние пять лет. Очевидна тенденция к быстрому развитию простых, быстрых, экономичных и удобных для пользователя методов пробоподготовки, таких как УЗЭ и метод QuEChERS — за последние пять лет опубликовано соответственно 7 и 10 обзоров. Особенно большую популярность во всем мире приобрел метод QuEChERS, поскольку он удовлетворяет потребностям современных лабораторий, включая сокращение использования растворителей и материалов, а также уменьшение продолжительности и стоимости анализа. За последние пять лет, как видно из обзоров, посвященных жидкостной экстракции под давлением и матричной твердофазной дисперсии,

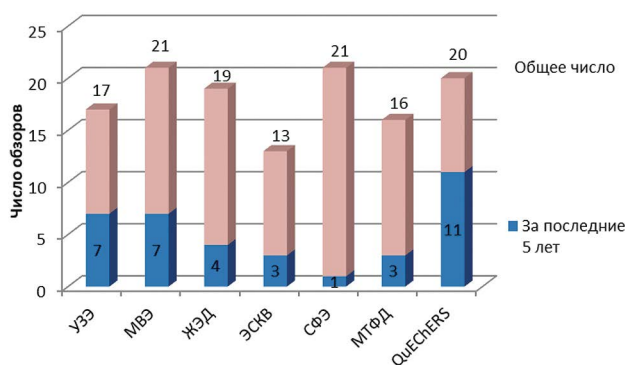


Рис. 5. Число обзоров по методам выделения органических соединений из твердых образцов, опубликованных за все время и за последние пять лет. Аббревиатуры: УЗЭ — ультразвуковая экстракция, МВЭ — микроволновая экстракция, ЖЭД — жидкостная экстракция под давлением, ЭСКВ — экстракция субкритической водой, СФЭ — сверхкритическая флюидная экстракция, МТФД — матричная твердофазная дисперсия.

опубликовано много интересных работ, указывающих на то, что эти методы, сочетающие выделение аналитов с последующей очисткой экстрактов, продолжают развиваться. Во многом это связано с появлением новых сорбентов, в том числе и наноструктурированных, “зеленых” растворителей и миниатюризированных схем, сочетающих в случае МТФД выделение с другими вариантами пробоподготовки. Что касается микроволновой экстракции, экстракции субкритической водой и сверхкритической флюидной экстракции, то их применение в химическом анализе заметно уменьшилось, но при этом возросло число работ, посвященных применению этих методов для выделения биологически активных веществ из растений.

Авторы выражают благодарность Междисциплинарной научно-образовательной школе Московского университета “Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды”.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания, тема № АААА-А21-121011990021-7.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Majors R.E.* Modern Techniques for the Extraction of Solid Materials — An Update // *LCGC Europe*. 2007. V. 20. P. 71.
2. *Ridgway K., Lalljie S.P.D., Smith R.M.* Sample preparation techniques for the determination of trace residues and contaminants in foods // *J. Chromatogr. A*. 2007. V. 1153. P. 36.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.01.134>
3. *Brinco Silva J., Mateus E.P., Ribeiro A.B., Guedes P., da Gomes M.* Analysis of pesticide residues in soil: A review and comparison of methodologies // *Microchem. J.* 2023. V. 195. Article 109465.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.109465>
4. *Qin H., Liu H., Liu Y., Di S., Bao Y., Zhai Y., Zhu S.* Recent advances in sample preparation and chromatographic analysis of pharmaceuticals and personal care products in environment // *Trends Anal. Chem.* 2023. V. 164. Article 117112.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117112>
5. *Picot-Allain C., Mahomoodally M. F., Ak G., Zengin G.* Conventional versus green extraction techniques — A comparative perspective // *Curr. Opin. Food Sci.* 2021. V. 40. P. 144.
<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.02.009>
6. *Armenta S., Garrigues S., Esteve-Turrillas F.A., de la Guardia M.* Green extraction techniques in

- green analytical chemistry // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 116. P. 248.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.03.016>
7. Aly A.A., Górecki T. Green approaches to sample preparation based on extraction techniques // *Molecules*. 2020. V. 25. P. 1719.
<https://doi.org/10.3390/molecules25071719>
 8. Syrgabek Y., Alimzhanova M., García-Encina P.A., Jiménez J.J., López-Serna R. Greenness evaluation of sample preparation methods by GAPI for the determination of pesticides in grape: A review // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2023. V. 39. Article e00206.
<https://doi.org/10.1016/j.teac.2023.e00206>
 9. Usman M., Nakagawa M., Cheng S. Emerging trends in green extraction techniques for bioactive natural products // *Processes*. 2023. V. 11. P. 3444.
<https://doi.org/10.3390/pr11123444>
 10. Moreda-Piñero J., Moreda-Piñero A. Combined assisted extraction techniques as green sample pretreatments in food analysis // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 118. P. 1.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.026>
 11. Moreda-Piñero J., & Moreda-Piñero A. Recent advances in coupled green assisted extraction techniques for foodstuff analysis // *Trends Anal. Chem.* 2023. V. 169. Article 117411
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117411>
 12. Maciel-Silva F.W., Lachos-Perez D., Buller L.S., Sganzerla W.G., Pérez M., Rostagno M.A., Forster-Carneiro T. Green extraction processes for complex samples from vegetable matrices coupled with on-line detection system: A critical review // *Molecules*. 2022. V. 27. P. 6272.
<https://doi.org/10.3390/molecules27196272>
 13. Cetinkaya A., Kaya S.I., Ozkan S.A. An overview of the current progress in green analytical chemistry by evaluating recent studies using greenness assessment tools // *Trends Anal. Chem.* V. 168. Article 117330.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117330>
 14. Дмитриенко С.Г., Аняри В.В., Толмачева В.В., Горбунова М.В., Фурлетов А.А., Золотов Ю.А. Методы выделения органических соединений из твердых образцов. 1. Жидкостная экстракция. Обзор обзоров // *Журн. аналит. химии*. 2024. № 8. С. 811.
 15. Mendiola J.A., Herrero M., Cifuentes A., Ibanez E. Use of compressed fluids for sample preparation: Food applications // *J. Chromatogr. A*. 2007. V. 1152. P. 234.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.02.046>
 16. Herrero M., Castro-Puyana M., Mendiola J.A., Ibañez, E. Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds // *Trends Anal. Chem.* 2013. V. 43. P. 67.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.12.008>
 17. Amador-Luna V.M., Montero L., Herrero M. Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds from plants, food by-products, seaweeds and microalgae — An update from 2019 to 2023 // *Trends Anal. Chem.* 2023. V. 169. Article 117410.
 18. Gallego R., Bueno M., Herrero M. Sub- and supercritical fluid extraction of bioactive compounds from plants, food-by-products, seaweeds and microalgae — An update // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 116. P. 198.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.030>
 19. Yousefi M., Rahimi-Nasrabadi M., Pourmortazavi S.M., Wysocki M., Jesionowski T., Ehrlich H., Mirsadeghi S. Supercritical fluid extraction of essential oils // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 118. P. 182.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.038>
 20. Uwineza P.A., Waskiewicz A. Recent advances in supercritical fluid extraction of natural bioactive compounds from natural plant materials // *Molecules*. 2020. V. 25. Article 3847.
 21. Dias A.L. B., de Aguiar A.C., Rostagno M.A. Extraction of natural products using supercritical fluids and pressurized liquids assisted by ultrasound: Current status and trends // *Ultrason. Sonochem.* 2021. V. 74. Article 105584.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105584>
 22. Arumugham T., Rambabu K., Hasan S.W., Show P.L., Rinklebe J., Banat F. Supercritical carbon dioxide extraction of plant phytochemicals for biological and environmental applications — A review // *Chemosphere*. 2021. V. 271. Article 29525.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020>
 23. Qamar S., Torres Y.J. M., Parekh H.S., Falconer J. R. Extraction of medicinal cannabinoids through supercritical carbon dioxide technologies: A review // *J. Chromatogr. B*. 2021. V. 1167. Article 122581.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122581>
 24. López-Hortas L., Rodríguez P., Díaz-Reinoso B., Gaspar M.C., de Sousa H.C., Braga M.E. M., Domínguez H. Supercritical fluid extraction as a suitable technology to recover bioactive compounds from flowers // *J. Supercrit. Fluids*. 2022. V. 188. Article 105652
<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2022.105652>
 25. Fraguera-Meissimilly H., Bastías-Monte J.M., Vergara C., Ortiz-Viedma J., Lemus-Mondaca R., Flores M., Toledo-Merma P., Alcázar-Alay S., Gallón-Bedoya M. New trends in supercritical fluid technology and pressurized liquids for the extraction and recovery of bioactive compounds from agro-industrial and marine food waste // *Molecules*. 2023. V. 28. Article 4421.
<https://doi.org/10.3390/molecules28114421>
 26. Bjorklund E., Nilsson T., Bowadt S. Pressurised liquid extraction of persistent organic pollutants in environmental analysis // *Trends Anal. Chem.* 2000. V. 9. P. 434.
[https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(00\)00002-9](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(00)00002-9)
 27. Giergielewicz-Możajska H., Dąbrowski Ł., Namieśnik J. Accelerated solvent extraction (ASE) in the analysis of environmental solid samples — Some aspects of theory and practice // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2001. V. 31. P. 149.
<https://doi.org/10.1080/20014091076712>
 28. Ramos L., Kristenson E.M., Brinkman U.A.T. Current use of pressurised liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis // *J. Chromatogr. A*. 2002. V. 975. P. 3.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01336-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01336-5)

29. *Luque-Garcia J.L., Luque de Castro M.D.* Coupling of pressurized liquid extraction to other steps in environmental analysis // *Trends Anal. Chem.* 2004. V. 23. P. 102.
30. *Carabias-Martínez R., Rodríguez-Gonzalo E., Revilla-Ruiz P., Hernández-Méndez J.* Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples // *J. Chromatogr. A.* 2005. V. 1089. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.06.072>
31. *Schantz M.M.* Pressurized liquid extraction in environmental analysis // *Anal. Bioanal. Chem.* 2006. V. 386. P. 1043. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0648-2>
32. *Bjorklund E., Sparring S., Wiberg K., Haglund P., von Holst C.* New strategies for extraction and clean-up of persistent organic pollutants from food and feed samples using selective pressurized liquid extraction // *Trends Anal. Chem.* 2006. V. 25. P. 318.
33. *Nieto A., Borrull F., Pocurull E., Marcé R. M.* Pressurized liquid extraction: A useful technique to extract pharmaceuticals and personal-care products from sewage sludge // *Trends Anal. Chem.* 2010. V. 29. P. 752. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.03.014>
34. *Runnqvist H., Bak S.A., Hansen M., Styrisshave B., Halling-Sørensen B., Björklund E.* Determination of pharmaceuticals in environmental and biological matrices using pressurised liquid extraction — Are we developing sound extraction methods? // *J. Chromatogr. A.* 2010. V. 1217. P. 2447. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.02.046>
35. *Mustafa A., Turner C.* Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review // *Anal. Chim. Acta.* 2011. V. 703. P. 8. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.07.018>
36. *Sun H., Ge X., Lv Y., Wang A.* Application of accelerated solvent extraction in the analysis of organic contaminants, bioactive and nutritional compounds in food and feed // *J. Chromatogr. A.* 2012. V. 1237. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.03.003>
37. *Carro A.M., González P., Lorenzo R.A.* Applications of derivatization reactions to trace organic compounds during sample preparation based on pressurized liquid extraction // *J. Chromatogr. A.* 2013. V. 1296. P. 214. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.04.068>
38. *Subedi B., Aguilar L., Robinson E.M., Hageman K.J., Björklund E., Sheesley R.J., Usenko S.* Selective pressurized liquid extraction as a sample-preparation technique for persistent organic pollutants and contaminants of emerging concern // *Trends Anal. Chem.* 2015. V. 68. P. 119. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.02.011>
39. *Vazquez-Roig P., Picó Y.* Pressurized liquid extraction of organic contaminants in environmental and food samples // *Trends Anal. Chem.* 2015. V. 71. P. 55. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.014>
40. *Hoff R.B., Pizzolato T.M.* Combining extraction and purification steps in sample preparation for environmental matrices: A review of matrix solid phase dispersion (MSPD) and pressurized liquid extraction (PLE) applications // *Trends Anal. Chem.* 2018. V. 109. P. 83. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.002>
41. *Andreu V., Picó Y.* Pressurized liquid extraction of organic contaminants in environmental and food samples // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 118. P. 709. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.06.038>
42. *Cao Y., Liu W., Gong X., Yu J., Tu P., Li J., Song Y.* Online pressurized liquid extraction enables directly chemical analysis of herbal medicines: A mini review // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2021. V. 205. Article 114332. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114332>
43. *Fontanals N., Pocurull E., Borrull F., Marcé R.M.* Clean-up techniques in the pressurized liquid extraction of abiotic environmental solid samples // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2021. V. 29. Article e00111. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2020.e00111>
44. *Barp L., Višnjevec A.M., Moret S.* Pressurized liquid extraction: A powerful tool to implement extraction and purification of food contaminants // *Foods.* 2023. V. 12. P. 2017. <https://doi.org/10.3390/foods12102017>
45. *Smith R.M.* Extractions with superheated water // *J. Chromatogr. A.* 2002. V. 975. P. 31. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01225-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01225-6)
46. *Weingärtner H., Franck E.U.* Supercritical water as a solvent // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005. V. 44. P. 2672. <https://doi.org/10.1002/anie.200462468>
47. *Smith R.M.* Superheated water: the ultimate green solvent for separation science // *Anal. Bioanal. Chem.* // 2006. V. 385. P. 419. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0437-y>
48. *Ong E.S., Cheong J.S.H., Goh D.* Pressurized hot water extraction of bioactive or marker compounds in botanicals and medicinal plant materials // *J. Chromatogr. A.* 2006. V. 1112. P. 92. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.12.052>
49. *Kronholm J., Hartonen K., Riekkola M.-L.* Analytical extractions with water at elevated temperatures and pressures // *Trends Anal. Chem.* 2007. V. 26. P. 396. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.03.004>
50. *Teo C.C., Tan S.N., Yong J.W.H., Hew C.S., Ong E.S.* Pressurized hot water extraction (PHWE) // *J. Chromatogr. A.* 2010. V. 1217. P. 2484. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.12.050>
51. *Plaza M., Turner C.* Pressurized hot water extraction of bioactives // *Trends Anal. Chem.* 2015. V. 71. P. 39. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.02.022>
52. *Gbashi S., Adebo O.A., Piater L., Madala. N. E., Njobeh P.B.* Subcritical water extraction of biological materials // *Sep. Purif. Technol.* 2016. V. 46. P. 21. <https://doi.org/10.1080/15422119.2016.1170035>
53. *Castro-Puyana M., Marina M.L., Plaza M.* Water as green extraction solvent: Principles and reasons for its use // *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.* 2017. V. 5. P. 31. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2017.03.00>

54. Борисова Д.Р., Статкус М.А., Цизин Г.И., Золотов Ю.А. Вода в субкритическом состоянии: применение в химическом анализе // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72. С. 699. (Borisova D.R., Statkus M.A., Tsizin G.I., Zolotov Y.A. Subcritical water: Use in chemical analysis // J. Anal. Chem. 2017. T. 72. № 8. С. 823. <https://doi.org/10.1134/S1061934817080044>)
55. Zhang J., Wen C., Zhang H., Duan Y., Ma H. Recent advances in the extraction of bioactive compounds with subcritical water: A review // Trends Food Sci. Technol. 2019. V. 95. P. 183. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.11.018>
56. Essien S.O., Young B., Baroutian S. Recent advances in subcritical water and supercritical carbon dioxide extraction of bioactive compounds from plant materials // Trends Food Sci. Technol. 2020. V. 97. P. 156. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.014>
57. Cheng Y., Xue F., Yu S., Du S., Yang Y. Subcritical water extraction of natural products // Molecules 2021. V. 26. P. 1. <https://doi.org/10.3390/molecules26134004>
58. Hawthorne S.B. Analytical-scale supercritical fluid extraction // Anal. Chem. 1990. V. 62. P. 633A. <https://doi.org/10.1021/ac00210a722>
59. Janda V. Supercritical fluid extraction in environmental analysis // J. Chromatogr. A. 1993. V. 642. P. 283.
60. Camel V., Tambuté A., Caude M. Analytical-scale supercritical fluid extraction: A promising technique for the determination of pollutants in environmental matrices // J. Chromatogr. A. 1993. V. 642. P. 263.
61. Bowadt S., Hawthorne S.B. Supercritical fluid extraction in environmental analysis // J. Chromatogr. A. 1995. V. 703. P. 549. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(95\)00051-n](https://doi.org/10.1016/0021-9673(95)00051-n)
62. Lehotay S.J. Supercritical fluid extraction of pesticides in foods // J. Chromatogr. A. 1997. V. 785. P. 289. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00461-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00461-5)
63. Motohashi N., Nagashima H., Párkányi C. Supercritical fluid extraction for the analysis of pesticide residues in miscellaneous samples // J. Biochem. Biophys. Methods. 2000. V. 43. P. 313. [https://doi.org/10.1016/S0165-022X\(00\)00052-X](https://doi.org/10.1016/S0165-022X(00)00052-X)
64. Radcliffe C., Maguire K., Lockwood B. Applications of supercritical fluid extraction and chromatography in forensic science // J. Biochem. Biophys. Methods. 2000. V. 43. P. 261. [https://doi.org/10.1016/S0165-022X\(00\)00058-0](https://doi.org/10.1016/S0165-022X(00)00058-0)
65. Lang Q., Wai C.M. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies – A practical review // Talanta. 2001. V. 53. P. 771. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(00\)00557-9](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(00)00557-9)
66. Turner C., Eskilsson C.S., Björklund E. Collection in analytical-scale supercritical fluid extraction // J. Chromatogr. A. 2002. V. 947. P. 1. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)01592-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)01592-8)
67. Zougagh M., Valcárcel M., Ríos A. Supercritical fluid extraction: A critical review of its analytical usefulness // Trends Anal. Chem. 2004. V. 23. P. 399. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(04\)00524-2](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(04)00524-2)
68. Anitescu G., Tavlariides L.L. Supercritical extraction of contaminants from soils and sediments // J. Supercrit. Fluids. 2006. V. 38. P. 167. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2006.03.024>
69. Abbas K.A., Mohamed A., Abdulamir A.S., Abas H.A. A review on supercritical fluid extraction as new analytical method // Am. J. Biochem. Biotechnol. 2008. V. 4. P. 345. <https://doi.org/10.3844/ajbbbsp.2008.345.353>
70. Sunarso J., Ismadji S. Decontamination of hazardous substances from solid matrices and liquids using supercritical fluids extraction: A review // J. Hazard. Mater. 2009. V. 161. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.03.069>
71. Sapkale G., Patil S., Surwase U., Bhatbhage P. Supercritical fluid extraction // Int. J. Chem. Sci. 2010. V. 8. P. 729.
72. Herrero M., Mendiola J.A., Cifuentes A., Ibáñez E. Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications // J. Chromatogr. A. 2010. V. 1217. P. 2495. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.12.019>
73. Machida H., Takesue M., Smith R.L. Green chemical processes with supercritical fluids: Properties, materials, separations and energy // J. Supercrit. Fluids. 2011. V. 60. P. 2. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2011.04.016>
74. Xu L., Zhan X., Zeng Z., Chen R., Li H., Xie T., Wang S. Recent advances on supercritical fluid extraction of essential oils // Afr. J. Pharm. Pharmacol. 2011. V. 5. P. 1196. <https://doi.org/10.5897/AJPP11.228>
75. Huang Z., Shi X., Jiang W. Theoretical models for supercritical fluid extraction // J. Chromatogr. A. 2012. V. 1250. P. 2. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.04.032>
76. Покровский О. Пробоподготовка в химическом анализе методом сверхкритической флюидной экстракции // Аналитика. 2013. Т. 6. С. 23.
77. Pourmortazavi S.M., Rahimi-Nasrabadi, M. Hajimir-sadeghic S.S. Supercritical fluid technology in analytical chemistry // Curr. Anal. Chem. 2014. V. 10. P. 3.
78. Zoccali M., Donato P., Mondello L. Recent advances in the coupling of carbon dioxide-based extraction and separation techniques // Trends Anal. Chem. 2019. V. 116. P. 158. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.028>
79. Barker S.A., Long A.R., Short C.R. Isolation of drug residues from tissues by solid phase dispersion // J. Chromatogr. A. 1989. V. 475. P. 353.
80. Walker C.C., Lott H.M., Barker S.A. Matrix solid-phase dispersion extraction and the analysis of drugs and environmental pollutants in aquatic species // J. Chromatogr. A. 1993. V. 642. P. 225.
81. Barker S.A. Applications of matrix solid-phase dispersion in food analysis // J. Chromatogr. A. 2000. V. 880. P. 63. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)01290-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)01290-X)

82. *Barker S.A.* Matrix solid-phase dispersion // *J. Chromatogr. A*. 2000. V. 885. P. 115.
83. *Karasová G., Brandšterová E., Lachová M.* Matrix solid phase dispersion as an effective preparation method for food samples and plants before HPLC analysis // *Czech J. Food Sci.* 2003. V. 21. P. 219.
84. *Kristenson E.M., Brinkman U.A.Th., Ramos L.* Recent advances in matrix solid-phase dispersion // *Trends Anal. Chem.* 2006. V. 25. P. 96.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.05.011>
85. *Barker S.A.* Matrix solid phase dispersion (MSPD) // *J. Biochem. Bioph. Methods*. 2007. V. 70. P. 151.
<https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2006.06.005>
86. *Bogialli S., Di Corcia A.* Matrix solid-phase dispersion as a valuable tool for extracting contaminants from foodstuffs // *J. Biochem. Biophys. Methods*. 2007. V. 70. P. 163.
<https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2006.07.007>
87. *García-López M., Canosa P. Rodríguez I.* Trends and recent applications of matrix solid-phase dispersion // *Anal. Bioanal. Chem.* 2008. V. 391. P. 963.
<https://doi.org/10.1007/s00216-008-1898-y>
88. *Moreda-Pineiro J., Alonso-Rodríguez E., Lopez-Mahia P., Muniategui-Lorenzo S., Prada-Rodríguez D., Romaris-Hortas V., Míguez-Framil M., Moreda-Piñeiro A., Bermejo-Barrera P.* Matrix solid-phase dispersion of organic compounds and its feasibility for extracting inorganic and organometallic compounds // *Trends Anal. Chem.* 2009. V. 28. P. 110.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.09.016>
89. *Capriotti A.L., Cavaliere C., Giansanti P., Gubbiotti R., Samperi R., Laganà A.* Recent developments in matrix solid-phase dispersion extraction // *J. Chromatogr. A*. 2010. V. 1217. P. 2521.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.01.030>
90. *Capriotti A.L., Cavaliere C., Laganà A., Piovesana S., Samperi R.* Recent trends in matrix solid-phase dispersion // *Trends Anal. Chem.* 2013. V. 43. P. 53.
91. *Capriotti A.L., Cavaliere C., Foglia P., Samperi R., Stampachiaccchiere S., Ventura S., Laganà A.* Recent advances and developments in matrix solid-phase dispersion // *Trends Anal. Chem.* 2015. V. 71. P. 186.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.03.012>
92. *Tu X., Chen W.* A review on the recent progress in matrix solid phase dispersion // *Molecules*. 2018. V. 23. Article 2767.
<https://doi.org/10.3390/molecules23112767>
93. *Ramos L.* Use of new tailored and engineered materials for matrix solid-phase dispersion // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 118. P. 751.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.07.006>
94. *Wianowska D., Gil M.* New insights into the application of MSPD in various fields of analytical chemistry // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 112. P. 29.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.12.028>
95. *El-Deen A.K.* An overview of recent advances and applications of matrix solid-phase dispersion // *Sep. Purif. Reviews*. 2023. V. 53. P. 1.
<https://doi.org/10.1080/15422119.2023.2172734>
96. *Anastassiades M., Lehotay S., Stajnbaher D., Schenck F.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce // *J. AOAC Int.* 2003. V. 86. P. 412.
97. *Lehotay S.J., Anastassiades M., Majors R.E.* The QuEChERS revolution // *LCGC Europe*. 2010. V. 23. P. 418.
98. *Wilkowska A., Biziuk M.* Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology // *Food Chem.* 2011. V. 125. P. 803.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.094>
99. *Bruzzoniti M.C., Checchini L., De Carlo R.M., Orlandini S., Rivoira L., Del Bubba M.* QuEChERS sample preparation for the determination of pesticides and other organic residues in environmental matrices: A critical review // *Anal. Bioanal. Chem.* 2014. V. 406. P. 4089.
<https://doi.org/10.1007/s00216-014-7798-4>
100. *González Curbelo M.Á., Socas-Rodríguez B., Herrera-Herrera A., González-Sálamo J., Hernández-Borges J., Rodríguez-Delgado M.Á.* Evolution and applications of the QuEChERS method // *Trends Anal. Chem.* 2015. V. 71. P. 169.
101. *Rejczak T., Tuzimski T.* A review of recent developments and trends in the QuEChERS sample preparation approach // *Open Chemistry*. 2015. V. 13. P. 980.
<https://doi.org/10.1515/chem-2015-0109>
102. *Schmidt M.L., Snow N.H.* Making the case for QuEChERS-gas chromatography of drugs // *Trends Anal. Chem.* 2016. V. 75. P. 49.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.07.012>
103. *Pszczolinska K., Michel M.* The QuEChERS approach for the determination of pesticide residues in soil samples: An overview // *J. AOAC Int.* 2016. V. 99. P. 1403.
<https://doi.org/10.5740/jaoacint.16-0274>
104. *Rahman M.M., Abd El-Aty A.M., Kim S.-W., Shin S.C., Shin H.-C., Shim J.-H.* Quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe sample preparation approach for pesticide residue analysis using traditional detectors in chromatography: A review. // *J. Sep. Sci.* 2016. V. 40. P. 203.
<https://doi.org/10.1002/jssc.201600889>
105. *Lawal A., Wong R.C. S., Tan G.H., Abdulra'uf L.B., Alsharif A. M.A.* Recent modifications and validation of QuEChERS-dSPE coupled to LC-MS and GC-MS instruments for determination of pesticide/agrochemical residues in fruits and vegetables: Review. // *J. Chromatogr. Sci.* 2018. V. 56. P. 656.
<https://doi.org/10.1093/chromsci/bmy032>
106. *Zhang C., Deng Y., Zheng J., Zhang Y., Yang L., Liao C., Su L., Zhou Y., Gong D., Chen L., Luo A.* The application of the QuEChERS methodology in the determination of antibiotics in food: A review // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 118. P. 517.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.06.01>
107. *Santana-Mayor Á., Socas-Rodríguez B., Herrera-Herrera A.V., Rodríguez-Delgado M.Á.* Current

- trends in QuEChERS method. A versatile procedure for food, environmental and biological analysis // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 116. P. 214.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.018>
108. Musarurwa H., Chimuka L., Pakade V.E., Tavengwa N.T. Recent developments and applications of QuEChERS based techniques on food samples during pesticide analysis // *J. Food Compos. Anal.* 2019. Article 103314.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103314>
 109. Alcântara D.B., Fernandes T.S. M., Nascimento H.O., Lopes A.F., Menezes M.G. G., Lima A.C. A., Carvalho T.V., Grinberg P., Milhome M.A. L., Oliveira A.H. B., Becker H., Zocolo G.J., Nascimento R.F. Diagnostic detection systems and QuEChERS methods for multiclass pesticide analyses in different types of fruits: An overview from the last decade // *Food Chem.* 2019. V. 298. Article 124958.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124958>
 110. Perestrelo R., Silva P., Porto-Figueira P., Pereira J.A. M., Silva C., Medina S., Câmara J.S. QuEChERS – Fundamentals, relevant improvements, applications and future trend // *Anal. Chim. Acta.* 2019. V. 1070. P. 1.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.02.036>
 111. Kim L., Lee D., Cho H.-K., Choi S.-D. Review of the QuEChERS method for the analysis of organic pollutants: Persistent organic pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons, and pharmaceuticals // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2019. V. 22. Article e00063.
<https://doi.org/10.1016/j.teac.2019.e00063>
 112. González-Curbelo M.Á., Varela-Martínez D.A., Riaño-Herrera D.A. Pesticide-residue analysis in soils by the QuEChERS method: A review // *Molecules.* 2022. V. 27. Article 4323.
<https://doi.org/10.3390/molecules27134323>
 113. Lehotay S.S. The QuEChERSER mega-method // *LCGC North America.* 2022. V. 40. P. 13.
 114. Zhou Q., Yu C., Meng L., Ji W., Liu S., Pan C., Lan T., Wang L., Qu B. Research progress of applications for nano-materials in improved QuEChERS method // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2023. P. 1.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2225613>
 115. Santana-Mayor A., Rodríguez-Ramos R., Herrera-Herrera A.V., Socas-Rodríguez B., Rodríguez-Delgado M.A. Updated overview of QuEChERS applications in food, environmental and biological analysis (2020–2023) // *Trends Anal. Chem.* 2023. V. 169. Article 117375.
 116. Sadighara P., Basaran B., Afshar A., Nazmara S. Optimization of clean-up in QuEChERS method for extraction of mycotoxins in food samples: A systematic review // *Microchem. J.* 2024. V. 197. Article 109711.

METHODS OF ORGANIC COMPOUNDS ISOLATION FROM SOLID SAMPLES. 2. EXTRACTION UNDER SUB- AND SUPERCRITICAL CONDITIONS. MATRIX SOLID-PHASE DISPERSION. THE QUECHERS METHOD. REVIEW OF REVIEWS

S. G. Dmitrienko^a, V. V. Apyari^a, V. V. Tolmacheva^a, *, M. V. Gorbunova^a,
 A. A. Furletov^a, G. I. Tsizin^a, Yu. A. Zolotov^{a,b}

^a*Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry
 119991 Russia, Moscow, GSP-1, Leninskie gory, 1, p. 3*

^b*Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences
 31 Leninsky Prospekt, Moscow, 119991 Russia*

*E-mail: nikatolm@mail.ru

Abstract. The second and final part of the review. General information is provided on extraction under sub- and supercritical conditions (liquid extraction under pressure, subcritical water extraction, supercritical fluid extraction), the matrix solid-phase dispersion method and the QuEChERS method. Based on the analysis of the review papers, information on the specifics of sample preparation using these methods is systematized, experimental parameters affecting the extraction efficiency are considered, examples of the use of these methods for the isolation of organic compounds in the analysis of solid environmental objects, food and plants are given.

Keywords: liquid extraction under pressure, subcritical water extraction, supercritical fluid extraction, matrix solid-phase dispersion, QuEChERS, extraction of organic compounds

УДК 543.4

ЦИФРОВОЙ ЦВЕТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВОДНЫХ И ВОДНО-ОРГАНИЧЕСКИХ СИСТЕМ С ПРИМЕНЕНИЕМ ГИДРОФИЛЬНЫХ КОМПОЗИТНЫХ ПЛЕНОК СШИТЫЙ ПОЛИВИНИЛОВЫЙ СПИРТ–МАГНЕТИТ

© 2024 г. И. С. Щемелев^{a, *}, Т. В. Зиновьев^a, А. В. Иванов^{a, b}, Н. Б. Ферапонтов^a

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

^bИнститут общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук
Ленинский проспект, 31, Москва, 119991

*E-mail: shchemelev_93@mail.ru

Поступила в редакцию 11.10.2023 г.

После доработки 25.12.2023 г.

Принята к публикации 09.01.2024 г.

Описано применение композитных пленок состава сшитый поливиниловый спирт–магнетит в качестве чувствительных элементов для определения состава водных растворов методом цифровой цветометрии. Предложен новый подход к получению композитных материалов состава гидрофильный полимер–магнетит путем осаждения частиц Fe_3O_4 в парах аммиака. Полученные таким образом сенсорные пленки применили для определения объемной доли спирта в продукции с высоким его содержанием. Предел определения этанола составил 63 об.%, изопропанола – 24 об.%. Предложенные сенсорные материалы опробованы при анализе жидких антисептиков для рук.

Ключевые слова: композитные сенсорные материалы, гидрофильные полимеры, цифровая цветометрия, водно-спиртовые системы.

DOI: 10.31857/S0044450224090028, EDN: tjbvvg

Разработка сенсорных устройств и тест-систем для осуществления внелабораторного анализа — одна из ключевых задач современной аналитической химии. Одним из перспективных направлений внелабораторного анализа является применение бытовых цифровых устройств (фотоаппаратов, смартфонов, снабженных фотокамерой и пр.), которыми сейчас пользуется практически каждый человек [1, 2]. С их помощью возможно сохранение полученной информации, ее обработка и передача данных в лабораторию. Наибольший интерес для применения смартфона в аналитических целях представляют варианты оптических методов, относящихся к цифровой цветометрии, позволяющей по координатам цветов (например, в формате RGB) получить информацию о природе аналита и о его концентрации [3].

Широкое распространение цветометрический анализ получил при использовании твердых носителей. В этом случае возможна сорбция носителем окрашенного соединения,

нековалентная иммобилизация органического реагента на поверхности носителя либо реакция функциональных групп носителя с аналитами, приводящая к образованию окрашенного соединения [4]. Разработаны сенсорные и тест-системы для определения антибиотиков [5–7], ионов тяжелых металлов [8, 9], аммиака и сульфидов [10], лекарственных веществ [11] и ПАВ [12, 13]. Нередко встречается цветометрический анализ окрашенных жидких сред, содержащих реагенты [14, 15] или наночастицы [16, 17]. Сенсоры на основе окрашенных жидкостей нашли применение в области биохимических исследований [18] и даже для определения точки эквивалентности в титриметрии [19]. Однако во всех случаях приходится прибегать к применению дополнительных реагентов для получения окрашенных соединений.

Перспективным представляется применение в аналитических целях фотонно-кристаллических сенсоров и их аналогов, в том числе голографических сенсоров [20–23]. Принцип

их отклика заключается в изменении периода структуры сенсорной матрицы и ее эффективного показателя преломления, что приводит к изменению Брэгговской дифракции света, и, соответственно, сдвигу максимума в спектрах отражения. Этот сдвиг проявляется в изменении цвета фотонного кристалла (ФК). Для работы с фотонными кристаллами и их аналогами распространенным способом получения аналитического сигнала служат спектроскопия зеркального [22, 23] или диффузного [24, 25] отражения и визуальное детектирование [26, 27]. Поскольку человеческий глаз не способен фиксировать незначительные изменения длин волн, визуальное наблюдение изменения окраски ФК или их аналогов служит лишь для полуколичественного анализа. Альтернативой данному способу измерения аналитического сигнала может служить цветометрический анализ с применением цифровой бытовой техники.

Работ, посвященных цветометрическому измерению фотонных кристаллов и их аналогов очень мало: основная проблема применения современных цифровых фотоаппаратов для аналитических целей состоит в том, что они по-разному отображают излучение при различных длинах волн. Эти различия можно учесть, калибруя средства измерения по стандартному спектру (например, ртутному) с получением таким путем характеристической поверхности фотокамеры [28]. Наилучшие результаты при этом получаются в случае обработки фотоизображений, получаемых в raw-формате [29], поскольку в этом случае возможно проведение измерений в более широком спектральном диапазоне. Другим ограничением применения фотонных кристаллов является сложность их изготовления и, как следствие, высокая стоимость. Не стоит забывать, что наблюдаемый цвет ФК зависит еще и от угла наблюдения. Это также следует учитывать при работе с ФК и их аналогами.

В данной статье предложен новый вариант измерения аналитического отклика (нахождение цветометрических координат RGB) аналогов ФК, представляющих собой композитные пленки состава сшитый поливиниловый спирт (ПВС)—магнетит. Цифровую цветометрию для изучения подобных сенсорных элементов ранее не применяли. Другие способы измерения сигнала, связанного с набуханием композитных пленок ПВС, более трудоемки и не всегда точны (в отличие от набухания гранул [30]). Простота изготовления сенсорных пленок на основе ПВС, а также низкая стоимость применяемых для этой цели реагентов делает их перспективным материалом для массового использования во вне-лабораторных методах анализа. Ранее [30, 31] композиты состава сшитый ПВС—магнетит изучали в качестве чувствительного элемента в виде

сферических гранул в рамках метода оптической микрометрии, благодаря чему достоверно известна степень их набухания в различных по составу растворах углеводов [32, 33] и некоторых электролитов [34].

Цель данной работы — исследование композитных пленок состава сшитый ПВС—магнетит с разным содержанием частиц Fe_3O_4 в качестве сенсорного элемента в водных растворах этанола и изопропанола при использовании цифровой цветометрии для измерения аналитического отклика.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и реактивы. Использовали соли $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ч.д.а. (ООО “ПраймКемикалсГрупп”, Россия) и $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ч. (Reanal, Венгрия), 2.5%-ный раствор NH_3 , полученный разбавлением 25%-ного. В качестве полимерной матрицы использовали поливиниловый спирт марки ПВС 18/11 (Реахим, Россия), в качестве сшивающего агента — эпихлоргидрин (ЭХГ) (Кемстор, Россия). Также в работе использовали KCl х. ч. (Реахим, Россия), MgCl_2 ч. (Реахим, Россия), этанол 95%-ный (Реахим, Россия), изопропанол х. ч. (Химпролаб, Россия), деионизованную воду.

Получение пленок из сшитого поливинилового спирта. 20 г ПВС марки 18/11 заливали 100 мл воды, перемешивали и оставляли на 12 ч для полного набухания. Приготовленную смесь нагревали на водяной бане при перемешивании, постепенно увеличивая температуру до 373 К (100°C) (15–30 мин), и дожидались полного растворения. После полного растворения ПВС перемешивание прекращали и выдерживали раствор при этой температуре для удаления пузырьков воздуха (15–30 мин). Полученный раствор охлаждали на воздухе, стакан со смесью взвешивали и доливали испарившееся количество воды (30 мин). Затем создавали необходимую для протекания реакции щелочную среду, при интенсивном перемешивании снова нагревая смесь на водяной бане до 371 К (98°C) и в течение 30 мин по каплям добавляя раствор 10 г NaOH в 20 мл воды. После этого температуру снижали до 303–313 К ($30\text{--}40^\circ\text{C}$) и приливали 20 мл ЭХГ (ПВС-20) при быстром перемешивании. Полученный гель разливали по заранее подготовленным формам глубиной около 1 мм и оставляли под прессом на сутки. Пленки из сшитого ПВС промывали деионизованной водой, этанолом и еще раз деионизованной водой.

Осаждение магнетита в пленках сшитого поливинилового спирта. Пленки сшитого ПВС нарезают на квадратные пластинки размером 0.7×0.7 см. Далее пластинки замачивали

в растворе солей железа(II) и железа(III) с концентрациями 0.05 и 0.10 М соответственно и выдерживали на ультразвуковой ванне (47 кГц, 60 Вт) в течение определенного времени. Подготовленные таким образом прекурсоры помещали на магнитную платформу эксикатора (рис. 1), на дне которого находился 2.5%-ный раствор NH_3 , и выдерживали в течение 15 мин. Полученные таким образом композитные пленки неоднократно промывали дистиллированной водой для удаления с поверхности остатков солей железа и магнетита и хранили в бюксах, заполненных дистиллированной водой.

Спектроскопическое исследование композитных пленок. Для получения спектров пропускания света композитными пленками состава сшитый ПВС–магнетит исследуемую пленку помещали в кварцевую ячейку с длиной оптического пути 10 мм, заполненную водой, таким образом, чтобы пленка располагалась вертикально. Кювету помещали в спектрофотометр УФ-1200 (Экоинструмент, Россия) и измеряли светопропускание при разных длинах волн в диапазоне от 380 до 800 нм с шагом 10 нм, каждый раз настраивая прибор по кювете с водой, не содержащей пленки. По полученным данным строили спектры пропускания исследуемых пленок.

Спектры диффузного отражения пленок получали с помощью спектрометра Eye-One Pro 2, используемого для калибровки мониторов и цветных принтеров [35, 36]. Исследуемый образец помещали на стеклянный столик и накрывали тефлоновой подложкой, обеспечивающей высокую интенсивность получаемого сигнала. Исследуемую пленку, выдержанную до состояния равновесия в воде или исследуемом растворе, помещали на стеклянную платформу прибора, накрывали подложкой и тотчас же измеряли аналитический сигнал с помощью программы

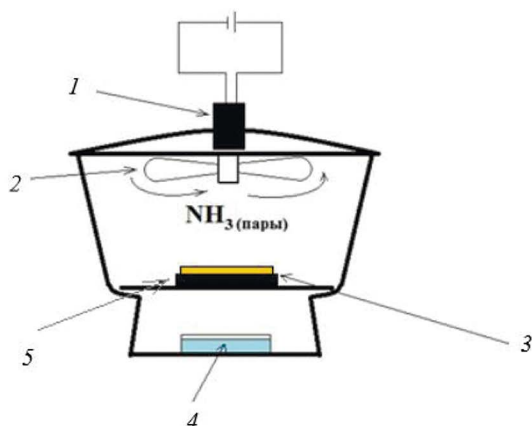


Рис. 1. Схема установки для внедрения частиц магнетита в пленки. 1 – мотор, 2 – вентилятор, 3 – пленка, 4 – водный раствор аммиака, 5 – магнитная платформа.

il share © (разработки фирмы “X-Rite”, США) [37]. Предварительно проводили калибровку спектрометра по стандартному образцу, прилагаемому к прибору. Данные экспортировали в формат Excel и строили спектры диффузного отражения образцов в диапазоне длин волн 380–730 нм с шагом 10 нм.

Для точного определения положения максимумов в спектрах использовали алгоритм, описанный в работах [35, 36]. Три точки, лежащие на максимуме, описывали квадратичной зависимостью вида $y = ax^2 + bx + c$ и по найденным методом наименьших квадратов коэффициентам находили положение максимума по формуле $x_{\max} = -b/2a$.

Проведение измерений. Для цветиметрического определения состава растворов нами предложена установка, представленная на рис. 2. Основными узлами являются смартфон 5 и штатив 1, снабженный источником освещения 2. Измеряемый образец помещают на предметный столик 3. Специальное крепление для смартфона 4 позволяет использовать для работы смартфоны любых габаритов.

При проведении анализа композитную пленку фотографировали в ячейке, заполненной дистиллированной водой. Затем композит перемещали в исследуемый раствор и выдерживали в течение времени, необходимого для достижения равновесной степени набухания (не менее



Рис. 2. Установка для измерения цветиметрического сигнала (интенсивности цветовых параметров A_r) пленок. Пояснения см. в тексте.

20 мин [31, 32]). После этого пленку фотографировали в ячейке, заполненной исследуемым раствором. Полученные таким образом фотографии композита в воде и в исследуемом растворе переносили на компьютер и в программе ImageJ © фирмы “Wayne Rasband” (США) [38] рассчитывали цветовые координаты в пространстве RGB. Величину аналитического сигнала – интенсивность цветовых параметров Ar – рассчитывали по формуле:

$$Ar = \sqrt{(R_0 - R)^2 + (G_0 - G)^2 + (B_0 - B)^2}, \quad (1)$$

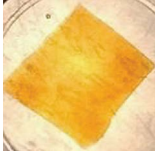
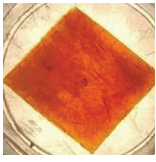
где R_0 , G_0 , B_0 , R , G , B – цифровые значения интенсивностей красного, зеленого, синего цветов для композита в воде и анализируемом растворе соответственно [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристики исследуемых пленок. В качестве сенсорных матриц для цветометрических измерений были изготовлены композиты с разным содержанием магнетита. Исходным сырьем для их получения служил ПВХ марки 18/11, так как свойства сшитого полимера на его основе ранее хорошо изучены. При этом средняя толщина пленок в одной партии составляла 0.97 мм, что весьма удобно для дальнейшей их эксплуатации. При строгом воспроизведении всех условий синтеза свойства пленок также были воспроизводимыми.

При формировании частиц Fe_3O_4 в пленках выбрали концентрации солей железа(III) и железа(II) 0.10 и 0.05 М соответственно. Для получения более мелких и однородных по размеру частиц магнетита в эксикатор помещали 2.5%-ный раствор аммиака. Для соблюдения условий, необходимых для получения однородных по цвету сенсорных элементов, в дополнение к вентилятору модифицировали способ импрегнирования полимера солями железа. Пленки в течение разного времени выдерживали в растворах под воздействием ультразвукового излучения для более равномерного и быстрого проникновения солей железа в гель. Магнитная платформа в эксикаторе, на которую помещали пленки, способствовала более однородному распределению растущих частиц Fe_3O_4 по всему объему пленок. В табл. 1 приведены фотографии в проходящем свете пленок, полученных при разном времени импрегнирования их солями железа. Время роста частиц Fe_3O_4 во всех случаях составило 15 мин. По мере увеличения количества магнетита композиты приобретали более темный оттенок коричневого цвета. Начиная с третьего образца, композиты имеют практически одинаковый цвет, что, вероятно, связано с достижением предельного насыщения слоя ПВХ солями железа.

Таблица 1. Время выдерживания пленок в растворе солей железа

№ композита	Время выдерживания, мин	Фотография композита в воде
1	1	
2	2	
3	3	
4	4	
5	5	
6	10	

Оптические свойства полученных образцов исследовали методами спектрофотометрии и спектроскопии диффузного отражения. Представленные на рис. 3а спектры пропускания демонстрируют, что полученные пленки обладают свойствами, присущими коллоидным системам, а именно: монотонным возрастанием светопропускания с увеличением длины волны. Причем чем выше концентрация частиц Fe_3O_4 , тем меньше светопропускание вследствие поглощения и дополнительного рассеяния света частицами. Особый интерес представляют спектры отражения, поскольку с их помощью можно выявить фотонно-кристаллические свойства сенсорной матрицы, которые трудно обнаружить визуально [39]. В связи с этим для образцов №№ 1 и 6 получили спектры диффузного отражения на тефлоновой

подложке (рис. 3б). В спектрах отражения, как и в спектрах пропускания, наблюдается та же общая тенденция — рост сигнала с ростом длины волны. Однако следует отметить, что в коротковолновой области в спектрах наблюдается несколько локальных максимумов при длинах волн 428.2 и 474.5 нм. Это свидетельствует о возможной Брэгговской дифракции света исследуемыми пленками в данном диапазоне длин волн, поскольку окрашенных в синий или фиолетовый цвет продуктов в системе нет. Таким образом, полученные пленки можно считать аналогами ФК и использовать в качестве сенсорных элементов при проведении химического анализа.

В качестве модельных систем для проверки формирования цветометрического аналитического отклика композитных пленок выбрали растворы электролитов — KCl и $MgCl_2$, для которых хорошо изучено поведение гранул

сшитого ПВС. Известно, что в растворе хлорида калия матрица ПВС сжимается, а в растворе хлорида магния набухает [40]. Измеряли цветовые параметры композитных пленок в растворах хлорида калия с концентрациями 0.5, 1.0, 2.0 и 3.0 М и а растворах хлорида магния с концентрациями 0.5, 1.0, 1.5 М, при этом наблюдали увеличение интенсивности сигнала Ar (рис. 4). Изменение степени набухания ПВС приводит к изменению концентрации частиц магнетита на единицу объема, что, в свою очередь, меняет интенсивность проходящего через пленку света, а следовательно, цветовые характеристики. Чувствительность пленок по отношению к KCl и $MgCl_2$ отличается, поскольку степень сжатия пленок в растворе KCl выше, чем степень набухания в растворе $MgCl_2$. Внедрение большего количества частиц Fe_3O_4 в пленку повышает чувствительность, но вместе с тем сужает диапазон определяемых концентраций, что

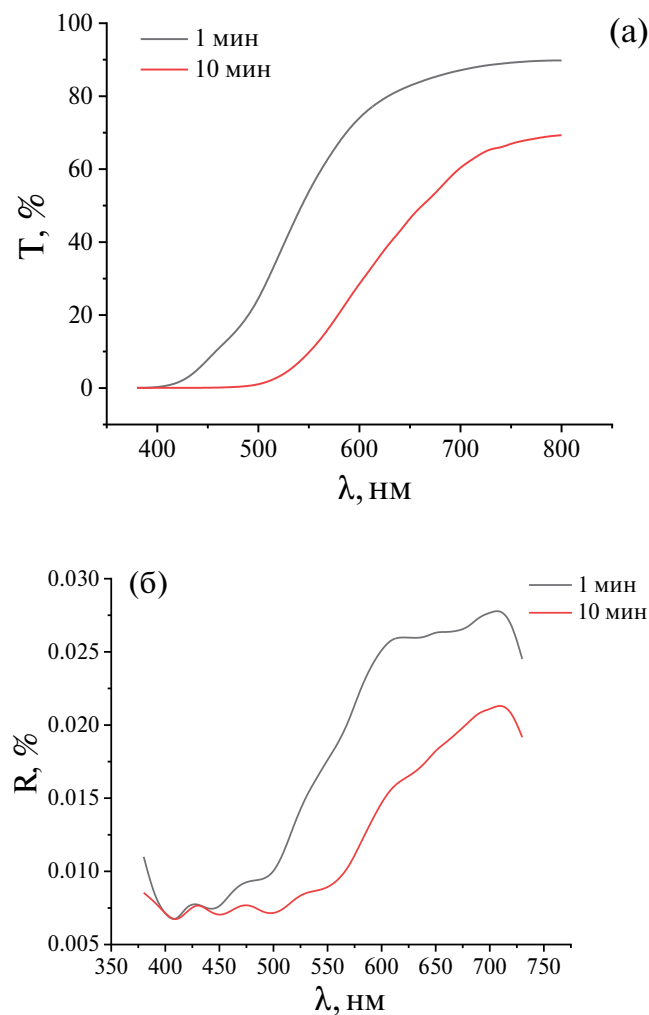


Рис. 3. Спектры пропускания (а) и отражения (б) пленок, полученных выдерживанием в течение разного времени в солях железа: $c_{Fe(III)} = 0.10$ М, $c_{Fe(II)} = 0.05$ М, мощность УЗ-излучения 60 Вт, частота 40 кГц.

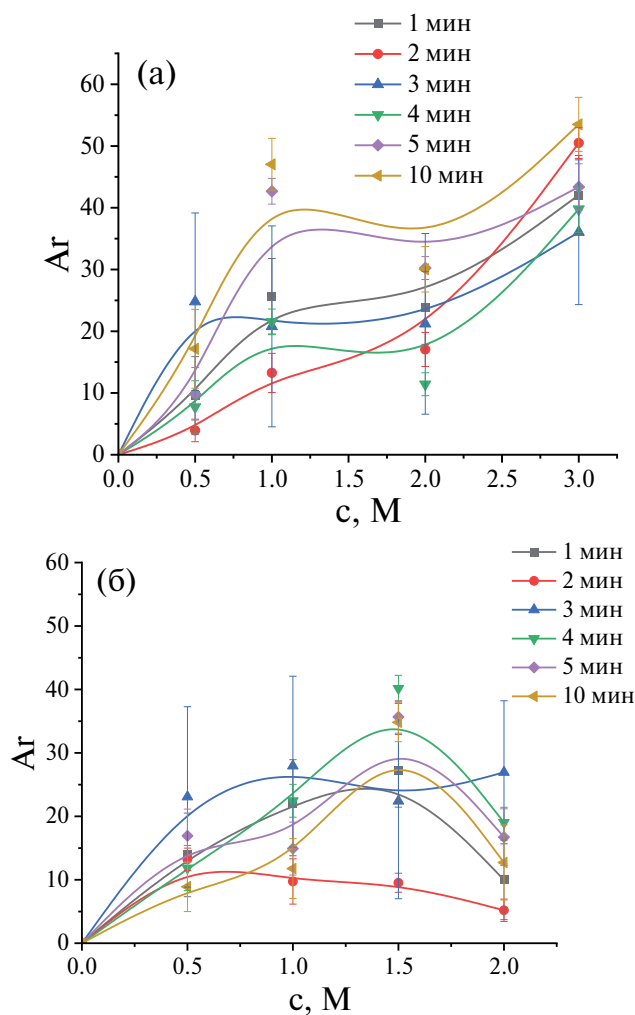


Рис. 4. Концентрационные зависимости интенсивности цветовых параметров Ar пленок с разным временем импрегнирования солями железа в растворах KCl (а) и $MgCl_2$ (б).

особенно заметно в случае растворов KCl, где диапазон определяемых концентраций растворенного вещества сужается от интервала 0–3.0 М до 0–1.0 М, а коэффициент чувствительности возрастает от 14.2 до 45.9 1/М. Связано это с тем, что при сжатии пленки сильно уменьшается интенсивность красного канала (R), обусловленная ростом концентрации магнетита. Кроме того, высокая концентрация магнетита в пленке препятствует ее сжатию, поскольку внедрение твердых частиц в гибкий материал снижает его гибкость, а с другой стороны, возможна блокировка функциональных групп ПВС за счет Ван-дер-Ваальсовых (или водородных) взаимодействий с частицами Fe_3O_4 . Практически на всех зависимостях для хлорида магния наблюдается экстремум при концентрации 1.5 М. Поскольку в случае MgCl_2 увеличивается объема геля ПВС, повышение концентрации магнетита приводит к увеличению контрастности изображения пленки при набухании и способствует расширению диапазона определяемых концентраций. Наличие же экстремума может быть объяснено адсорбцией MgCl_2 частицами Fe_3O_4 , сродство к которым у MgCl_2 , вероятно, выше, чем к ПВС.

Применение формулы (1) для расчета аналитического сигнала требует проведения измерений и холостой, и анализируемой пробы в одинаковых условиях. Однако применение всех трех цветовых координат вместо одной позволяет расширить диапазон определяемых содержаний компонентов и увеличить чувствительность их определения, что исследовали на модельных растворах электролитов. Так, при использовании всех трех цветовых координат вместо одной для пленки с наибольшим содержанием частиц Fe_3O_4 коэффициент чувствительности возрастает с 6.1 до 45.9 1/М, т.е. почти в 7.5 раз. При этом пленка не теряет свои сенсорные свойства в течение минимум 5–7 аналитических циклов, что также согласуется с результатами, полученными в рамках метода оптической микрометрии [41]. Единичный аналитический цикл состоит из перемещения композитной пленки из дистиллированной воды в раствор аналита, набухания (либо сжатия) пленки до достижения равновесия и последующего измерения отклика, после чего пленку можно снова перемещать в дистиллированную воду для восстановления первоначальных параметров.

Таким образом, продемонстрирована принципиальная возможность применения композитных пленок состава сшитый ПВС–магнетит для полуколичественного, оценочного анализа солевых растворов (при невысокой чувствительности и недостаточной селективности). Тем не менее это может оказаться полезным при мониторинге различных технологических

процессов, таких как производство реактивов, гальваника, мониторинг сточных вод предприятий и пр.

Анализ модельных растворов спиртов. Известно [42, 43], что материалы из набухающих полимеров пригодны для анализа водно-спиртовых систем с высоким содержанием спиртов. К таким материалам относится и поливиниловый спирт. В настоящей работе композитные пленки состава сшитый ПВС–магнетит исследовали в качестве чувствительных элементов для определения объемной доли этанола и изопропанола в водно-спиртовых растворах. Выбор аналитов обусловлен их широким применением в быту и в лабораториях.

Как и для растворов электролитов, для водно-спиртовых растворов получили концентрационные зависимости интенсивности цветометрических параметров (A_r) для пленки, выдержанной в течение 2 мин в солях железа. Выбор пленки обусловлен наибольшей контрастностью изображения набухшей и сжавшейся пленок, поскольку основной процесс при воздействии спирта на гель ПВС – сжатие. Полученные графики зависимости сигнала от объемной доли спиртов приведены на рис. 5. Как видно из представленных фотографий, с увеличением доли спирта в растворе пленка становится более темной. Различие в доверительных интервалах при воздействии электролитов (рис. 4) и спиртов (рис. 5), скорее всего, объясняется различием в перегруппировке частиц магнетита внутри пленок. Ориентация спиртов вокруг частиц Fe_3O_4 препятствует коагуляции магнетита в среде полимерного геля, тогда как в присутствии электролитов возможна коагуляция частиц магнетита, причем чем выше заряд иона, тем сильнее его коагулирующее действие, хотя внутри сшитого полимера такой процесс выражен слабее.

Приведенные данные хорошо согласуются с результатами, полученными методом оптической микрометрии при исследовании поведения композитных гранул в водно-спиртовых растворах [44]. Однако имеется различие в чувствительности пленки к чистым спиртам при практически одинаковом объеме геля в них. Вероятно, это связано с тем, что изопропанол из-за значительного размера молекул слабее сорбируется поливиниловым спиртом, поскольку хуже проникает в фазу полимерного раствора. Несорбированная часть молекул изопропанола, вероятно, сорбируется магнетитом за счет образования водородных связей с гидроксильными группами на поверхности Fe_3O_4 , и образуются агрегаты изопропанол–магнетит, которые из-за особенностей ориентации спирта в них начинают сближаться друг с другом, что приводит к более резкому уменьшению интенсивности

сигнала. Это предположение также можно подтвердить тем, что заметный отклик на этанол наблюдается, начиная с 60%-ного раствора, в то время как концентрационная зависимость сигнала для изопропанола имеет вид более плавной, монотонно возрастающей кривой. Отметим, что при воздействии спиртов композитные пленки выдерживали не менее 5–7 циклов работы.

Для применения пленок в аналитических целях удобно пользоваться линейными зависимостями. Для этанола линейная зависимость сигнала от концентрации наблюдается в области высоких содержаний (60 об.% и выше). Чтобы получить линейную концентрационную зависимость сигнала для изопропанола, использовали логарифм величины аналитического сигнала. По

линейным зависимостям установили, что предел обнаружения этанола составляет 63 об.%, а изопропанола 24 об.%. Таким образом, композитные пленки состава ПВС–магнетит наилучшим образом подходят для анализа объектов с высоким содержанием спиртов при их определении или оценке степени их чистоты.

Определение объемной доли этилового спирта в антисептиках для рук. Метод цифровой цветометрии с применением композитных пленок состава сшитый поливиниловый спирт–магнетит опробовали при определении объемной доли спирта в антисептиках для рук марок Dettol Original © и Sanitelle © на основе этанола. Полученные результаты (табл. 2) сравнивали с заявленными производителями на упаковках.

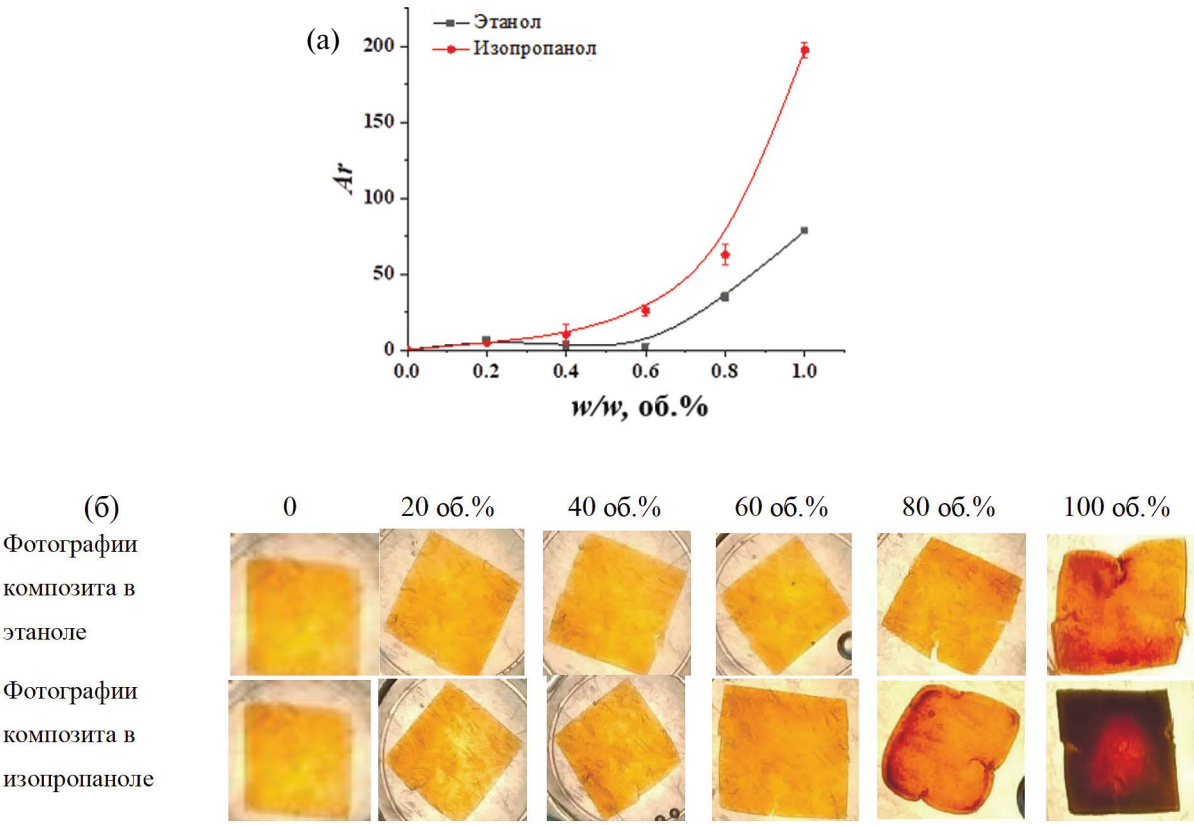


Рис. 5. Зависимость интенсивности цветовых параметров Ar от объемной доли спиртов в индивидуальных водно-спиртовых растворах (а) и фотографии пленки после выдерживания в растворах (б).

Таблица 2. Результаты определения объемной доли этанола (w/w) в антисептиках для рук ($n = 3$, $P = 0.95$) и оценка правильности метода

Название антисептика	Заявлено	В пробе без добавки	Введено	Найдено	В пробе без добавки, $\Delta_{отн}, \%$
Dettol original (Reckit, Великобритания)	0.680	0.66 ± 0.03	0.10	0.76 ± 0.05	3.2
Sanitelle (ООО “Бентус лаборатории”, Россия)	0.662	0.65 ± 0.03	0.10	0.75 ± 0.05	1.3

На упаковке антисептика для рук Sanitelle © указан следующий состав: спирт этиловый 66.2%, деионизованная вода, глицерин, пропиленгликоль, экстракт Алоэ Вера, витамин Е, функциональные добавки. На упаковке Dettol Original © приведен состав: спирт этиловый де-натурированный 68%, деионизованная вода, пропиленгликоль, сополимер полиэтиленгликоля и полипропиленгликоля, тетрагидрокси-пропилэтилендиамин, акрилаты, парфюмерные добавки.

Из табл. 2 видно, что результаты, полученные методом цифровой цветометрии, хорошо согласуются с данными производителя. Погрешность определения не превышает 4%. Для проверки правильности предложенного подхода использовали метод “введено—найдено”: в исследуемые образцы добавляли рассчитанный объем этилового спирта, чтобы добавка составила 10 об.%. Результаты показали, что добавки многоатомных спиртов или их сополимеров (например, полиэтиленгликоля) практически не влияют на степень набухания композитного материала, так как не проникают в объем композитной пленки и тем самым не вносят вклад в цветометрические параметры.

На данный момент ограничением предложенного подхода остается длительное достижение равновесия. Время достижения равновесия можно снизить уменьшением толщины используемых пленок (в разумных пределах — без потери механической прочности). Также следует учитывать, что коммерческие спиртовые и водно-спиртовые растворы, используемые в быту, часто содержат добавки красителей, что может затруднить анализ. Здесь возможно вычитание аналитического цветового сигнала, получаемого от самой пробы. Другим возможным подходом к анализу окрашенных сред служит калибровка камеры по стандартным шаблонам, с помощью которых можно найти поправочные коэффициенты для цвета пробы. Такие измерения будут предметом наших дальнейших исследований.

В целом композитные пленки состава сшитый ПВС—магнетит являются более подходящими материалами для анализа водно-спиртовых систем, чем для анализа растворов электролитов, поскольку в этом случае возможно количественное измерение. Наиболее подходящими объектами для анализа являются антисептики, дезинфицирующие средства, парфюмерные изделия.

Применение композитных пленок не ограничивается определением одних лишь спиртов. Поскольку пленки обладают свойствами,

подобными фотонным кристаллам, есть возможность усовершенствования метода цветометрии с фотосъемкой в отраженном свете, что в равной степени позволит задействовать все три цветовые координаты. В качестве перспективы дальнейшего развития подхода можно отметить также варьирование природы полимерной матрицы, в частности обращение к природным полимерам. Другим перспективным направлением может служить изменение природы внедряемых в полимерный гель наночастиц. Следовательно, применение композитных пленок на основе набухающих полимеров в сочетании с цифровой цветометрией является новым шагом в развитии внелабораторного анализа в будущем.

Авторский коллектив выражает благодарность к. х. н. Гагарину А.Н. за помощь в разработке установки для цветометрического измерения пленок.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках государственных заданий Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (регистрационный номер АААА-А21-121011590089-1) и Института общей и неорганической химии имени Н.С. Курнакова Российской Академии наук (регистрационный номер 1021071612841-6-1.4.7).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дмитриенко С.Г., Апыри В.В., Свиридова О.А., Бадакова С.А., Золотов Ю.А. Использование реакций диазотирования и азосочетания с участием пенополиуретана для определения нитрит-ионов с помощью спектроскопии диффузного отражения и цветометрических сканер-технологий // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. 2004. Т. 45. № 2. С. 131. (Dmitrienko S.G., Apyari V.V., Sviridova O.A., Badakova S.A., Zolotov Yu. A. On the new approach to the theory of preferential wetting of heterogeneous solid surfaces // Moscow Univ. Chem. Bull. 2004. V. 45. № 2. P. 131.)
2. Горбунова М.О., Баян Е.М., Шевченко А.В., Кулягинова М.С. Цветометрическое определение хлоридов в воде с использованием газовой экстракции и метилового оранжевого // Аналитика и контроль. 2017. Т. 21. № 3. С. 274. <https://doi.org/10.15826/analitika.2017.21.3.007>
3. Химченко С.В., Экспериандова Л.П. Цветометрия в инструментальном и визуальном тест-анализе.

- Саарбрюккен: Lap Lambert Academic Publishing, 2014. 221 с.
4. Золотов Ю.А., Иванов В.М., Амелин В.Г. Химические тест-методы анализа. М.: УРСС, 2002. 302 с.
 5. Шаока З.А. Ч. Развитие методологии цифровой цветометрии с использованием смартфона для определения органических веществ и идентификации объектов анализа. Дис. ... канд. хим. наук. Владимир: Владимирский государственный университет, 2022. 185 с.
 6. Амелин В.Г., Шаока З.А. Ч., Большаков Д.С. Твердофазно-флуориметрическое определение тетрациклинов в лекарственных препаратах на целлюлозной бумаге и тонком слое силикагеля с использованием смартфона // Хим.-фарм. журн. 2021. Т. 55. № 3. С. 52. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2021-55-3-52-57> (Amelin V.G., Shogah Z.A. C., Bol'shakov D.S. Solid-phase fluorimetric determination of tetracyclines in medicinal preparations on cellulose paper and in thin-layer silica gel using a smartphone // Pharm. Chem. J. 2021. V. 55. № 3. P. 303. <https://doi.org/10.1007/s11094-021-02416-x>)
 7. Амелин В.Г., Шаока З.А. Ч., Большаков Д.С. Использование смартфона для определения тетрациклинов в воде и молоке по сенсibilизированной твердофазной флуоресценции европия на его гидроксиде // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 10. С. 952. <https://doi.org/10.31857/S0044450221080028> (Amelin V.G., Shogah Z.A. C., Bol'shakov D.S. Using a smartphone for determining tetracyclines in water and milk by the sensitized solid state fluorescence of europium on its hydroxide // J. Anal. Chem. 2021. V. 76. № 10. P. 1211. <https://doi.org/10.1134/S1061934821080025>)
 8. Monisha, Shrivastava K., Kant T., Patel S., Devi R., Dahiya N.S., Pervez Sh., Deb M.K., Rai M.K., Rai J. Inkjet-printed paper-based colorimetric sensor coupled with smartphone for determination of mercury (Hg^{2+}) // J. Hazard. Mater. 2021. V. 414. Article 125440. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125440>
 9. Mahmoudian N., Zamani A., Fashi A., Richter P., Abdolmohammad-Zadeh H. Ultra-trace determination of cadmium in water and food samples by a thin-film microextraction using a supported liquid membrane combined with smartphone-based colorimetric detection // Food Chem. 2023. V. 421. 136193. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136193>
 10. Vargas-Muñoz M.A., Morales J., Cerdà V., Ferrer L., Palacio E. Paper sensor-based method using a portable 3D-printed platform and smartphone-assisted colorimetric detection of ammonia and sulfide monitoring in anaerobic digesters and wastewater // Microchem. J. 2023. V. 188. Article 108469. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.108469>
 11. Jain B., Jain R., Jha R.R., Bajaj A., Sharma Sh. A green analytical approach based on smartphone digital image colorimetry for aspirin and salicylic acid analysis // Green Anal. Chem. 2022. V. 3. Article 100033. <https://doi.org/10.1016/j.greeac.2022.100033>
 12. Амелин В.Г., Шаока З.А. Ч., Большаков Д.С. Микроэкстракционно-цветометрическое определение анионных ПАВ в природных и сточных водах // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2020. Т. 86. № 12. С. 5. <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2020-86-12-5-14> (Amelin V.G., Shogah Z.A. C., Bolshakov D.S. Microextraction-colorimetric determination of anionic surfactants in natural and waste waters // Ind. Lab. Diagn. Mater. 2020. V. 86. № 12. P. 5.)
 13. Амелин В.Г., Шаока З.А. Ч., Большаков Д.С. Микроэкстракционно-цветометрическое (флуориметрическое) определение катионных и анионных поверхностно-активных веществ в пищевых продуктах // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 3. С. 234. <https://doi.org/10.31857/S0044450221030038> (Amelin V.G., Shogah Z.A. C., Bol'shakov D.S. Microextraction-colorimetric (fluorimetric) determination of cationic and anionic surfactants in food products // J. Anal. Chem. 2021. V. 76. № 3. P. 330. <https://doi.org/10.1134/S1061934821030035>)
 14. Lima M.J. A., Sasaki M.K., Marinho O.R., Freitas T.A., Faria R.C., Reis B.F., Rocha F.R. P. Spot test for fast determination of hydrogen peroxide as a milk adulterant by smartphone-based digital image colorimetry // Microchem. J. 2020. V. 157. Article 105042. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105042>
 15. Marinho O.R., Lima M.J. A., Rocha F.P. R., Reis B.F. A green, fast and cost-effective smartphone-based digital image procedure for quantification of ethanol in distilled beverages // Microchem. J. 2019. V. 147. P. 437. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.03.054>
 16. Li X., Liu B., Hu Zh., Liu P., Ye K., Pan J., Niu X. Smartphone-assisted off-on photometric determination of phosphate ion based on target-promoted peroxidase-mimetic activity of porous $Ce_xZr_{1-x}O_2$ ($x \geq 0.5$) nanocomposites // Environ. Res. 2020. V. 189. Article 109921. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109921>
 17. Shrivastava K., Sahu B., Deb M.K., Thakur S.S., Sahu S., Kurrey R., Kant T., Patle T.K., Jangde R. Colorimetric and paper-based detection of lead using PVA capped silver nanoparticles: experimental and theoretical approach // Microchem. J. 2019. V. 150. Article 104156. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104156>
 18. Qian Sh., Cui Yu, Cai Zh., Li L. Application of smartphone-based colorimetric biosensors // Biosens. Bioelectron. X. 2022. V. 11. Article 100173. <https://doi.org/10.1016/j.biosx.2022.100173>
 19. Ruttanakorn K., Phadungcharoen N., Laiwat-tanapaisa W., Chinsriwongkul A., Rojanarata Th. Smartphone-based technique for the determination of a titration equivalence point from an RGB linear-segment curve with an example

- application to miniaturized titration of sodium chloride injections // *Talanta*. 2021. V. 233. Article 122602. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122602>
20. Park H., Koh Y.G., Lee W. Smartphone-based colorimetric analysis of structural colors from pH-responsive photonic gel // *Sens. Actuators B*. 2021. V. 345. Article 130359. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130359>
21. Qin J., Li X., Cao L., Du Sh., Wang W., Yao Sh. Q. Competition-based universal photonic crystal biosensors by using antibody-antigen interaction // *J. Am. Chem. Soc.* 2020. V. 142. № 1. P. 417. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b11116>
22. Крайский А.В., Постников В.А., Денискин В.В., Султанов Т.Т., Тихонов В.Е., Хамидулин А.В. Разработка сенсорных голографических датчиков на основе гидрогелей для количественного определения компонентов в биологических жидкостях // *Альманах клинической медицины*. 2008. № 17-2. С. 108.
23. Крайский А.В., Постников В.А., Султанов Т.Т., Хамидулин А.В. Голографические сенсоры для диагностики компонентов растворов // *Квантовая электроника*. 2010. Т. 40. № 2. С. 178. (Kraiskii A.V., Postnikov V.A., Sultanov T.T., Khamidulin A.V. Holographic sensors for diagnostics of solution components // *Quantum Elect.* 2010. V. 40. № 2. P. 178. <https://doi.org/10.1070/QE2010v040n02ABEH014169>)
24. Большаков Е.С., Иванов А.В., Козлов А.А., Абдуллаев С.Д. Сенсор на основе фотонного кристалла для обнаружения паров бензола, толуола и *о*-ксилола // *Журн. физ. химии*. 2018. Т. 92. № 8. С. 1283. <https://doi.org/10.7868/S0044453718080137> (Bol'shakov E.S., Ivanov A.V., Kozlov A.A., Abdullaev S.D. Photonic crystal sensor for detecting vapors of benzene, toluene and *o*-xylene // *Russ. J. Phys. Chem. A*. 2018. V. 92. № 8. P. 1530. <https://doi.org/10.1134/S0036024418080083>)
25. Иванов А.В., Большаков Е.С., Апыри В.В., Козлов А.А., Горбунова М.В., Абдуллаев С.Д. Аналитический отклик сенсорных матриц на основе фотонных кристаллов: измерение диффузного отражения // *Журн. аналит. химии*. 2019. Т. 74. № 2. С. 154. <https://doi.org/10.1134/S0044450219020075> (Ivanov A.V., Bol'shakov E.S., Apyari V.V., Kozlov A.A., Gorbunova M.V., Abdullaev S.D. Analytical response of sensor arrays based on photonic crystals: measurement of diffuse reflectance // *J. Anal. Chem.* 2019. V. 74. № 2. P. 198. <https://doi.org/10.1134/S1061934819020072>)
26. Kou D., Zhang Yo., Zhang Sh., Wu S., Ma W. High-sensitive and stable photonic crystal sensors for visual detection and discrimination of volatile aromatic hydrocarbon vapors // *Chem. Eng. J.* 2019. V. 375. Article 121987. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.121987>
27. Zhang J.-T., Cai Zh., Kwak D.H., Liu X., Asher S.A. Two-dimensional photonic crystal sensor for visual detection of lectin concanavalin A // *Anal. Chem.* 2014. V. 86. № 18. P. 9036. <https://doi.org/10.1021/ac5015854>
28. Крайский А.В., Миронова Т.В., Султанов Т.Т. Измерение поверхностного распределения длины волны узкополосного излучения колориметрическим методом // *Квантовая электроника*. 2010. Т. 40. № 7. С. 652. (Kraiskii A.V., Mironova T.V., Sultanov T.T. Measurement of the surface wavelength distribution of narrow-band radiation by a colorimetric method // *Quantum Elect.* 2010. V. 40. № 7. P. 652. <https://doi.org/10.1070/QE2010v040n07ABEH014288>)
29. Крайский А.В., Миронова Т.В., Султанов Т.Т. Измерение длины волны узкополосного излучения при обработке цифровых фотографий в raw-формате // *Квантовая электроника*. 2012. Т. 42. № 12. С. 1137. (Kraiskii A.V., Mironova T.V., Sultanov T.T. Narrow-band radiation wavelength measurement by processing digital photographs in raw-format // *Quantum Elec.* 2012. V. 42. № 12. P. 1137. <https://doi.org/10.1070/QE2012v042n12ABEH014914>)
30. Гагарин А.Н., Ферапонтов Н.Б., Иванов А.В., Тиханова О.А., Смирнова М.А., Иконникова И.С. Применение композитного материала “поливиниловый спирт – магнетит” для анализа растворов методом оптической микрометрии / Роль фундаментальных исследований при реализации стратегических направлений развития материалов и технологий их переработки на период до 2030 г. / Под ред. Дуюновой В.А., Оглодкова М.С., Шеина Е.А., Закржевской М.С.М.: ВИАМ, 2019. С. 339.
31. Ivanov A.V., Smirnova M.A., Tikhanova O.A., Gagarin A.N., Ferapontov N.B., Tokmachev M.G. Granulated metamaterial cross-linked polyvinyl alcohol – Magnetite for use in optical micrometry // *Theor. Found. Chem. Eng.* 2021. V. 55. № 5. P. 1023. <https://doi.org/10.1134/S0040579521050067>
32. Щемелев И.С., Ферапонтов Н.Б., Иванов А.В. Кинетические аспекты определения содержания углеводов в водных растворах методом оптической микрометрии // *Науч. вестн. СамГ У*. 2021. № 3 (127). С. 14.
33. Щемелев И.С., Староверова А.В., Ферапонтов Н.Б., Иванов А.В. Определение сахарозы в растворах методом оптической микрометрии с применением нового композита “сшитый поливиниловый спирт – магнетит” / *Инновационные материалы и технологии – 2021* / Под ред. Войтова И.В. Минск: БГТУ, 2021. С. 394.
34. Каримов Х.Р., Староверова А.В., Токмачев М.Г., Ферапонтов Н.Б., Трбов Х.Т. Применение композита поливиниловый спирт – магнетит для повышения точности метода оптической микрометрии // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23. № 2. С. 216. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11145>
35. Большаков Е.С. Сенсорные матрицы на основе трехмерных фотонных кристаллов для

- экспрессного обнаружения летучих органических соединений. Дис. ... канд. хим. наук. Москва: Московский государственный университет, 2021. 171 с.
36. *Большаков Е.С., Иванов А.В., Гармаш А.В., Самохин А.С., Козлов А.А., Золотов Ю.А.* Комплексный подход к мониторингу летучих органических соединений сенсорными фотонно-кристаллическими матрицами // Журн. неорг. химии. 2021. Т. 66. № 2. С. 220. <https://doi.org/10.31857/S0044457X21020033> (*Bol'shakov E.S., Ivanov A.V., Garmash A.V., Samokhin A.S., Kozlov A.A., Zolotov Yu. A.* Integrated approach to monitoring volatile organic compounds by photonic-crystal sensor matrices // Russ. J. Inorg. Chem. 2021. V. 66. № 2. P. 217. <https://doi.org/10.1134/S0036023621020030>)
 37. <https://www.xrite.com/> (03.12.2023).
 38. <https://imagej.net/> (03.12.2023).
 39. *Lu X., Chen Ch., Wen X., Han P., Jiang W., Liang G.* Highly charged, magnetically sensitive magnetite/polystyrene colloids: synthesis and tunable optical properties // J. Mater. Sci. 2019. V. 54. № 10. P. 7628. <https://doi.org/10.1007/s10853-019-03445-4>
 40. *Токмачев М.Г., Ферапонтов Н.Б., Тробо́в Х.Т., Гавлина О.Т.* Моделирование кинетики набухания гелей гидрофильных полимеров // Учен. записки физ. фак-та Моск. ун-та. 2018. № 5. 1850303.
 41. *Староверова А.В., Токмачев М.Г., Гагарин А.Н., Ферапонтов Н.Б.* Определение погрешностей результатов измерений, получаемых методом оптической микрометрии // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2023. Т. 89. № 6. С. 42. <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2023-89-6-42-50> (*Staroverova A.V., Tokmachev M.G., Gagarin A.N., Ferapontov N.B.* Determination of the error of measurements obtained by the optical micrometry // Ind. Lab. Diagn. Mater. 2023. V. 89. № 6. P. 42.)
 42. *Heshmat M., Li P.C. H.* Construction of an array of photonic crystal films for visual differentiation of water/ethanol mixtures // ACS Omega. 2019. V. 4. № 22. P. 19991. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b02947>
 43. *Yang J., Zhu Z., Feng J., Xue M., Meng Z., Qiu L., Mbola N.M.* Dimethyl sulfoxide infiltrated photonic crystals for gas sensing // Microchem. J. 2020. V. 157. Article 105074. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105074>
 44. *Смирнова М.А., Гагарин А.Н., Токмачев М.Г., Тробо́в Х.Т., Ферапонтов Н.Б.* Использование смешанных растворителей для определения концентрации растворенных веществ методом оптической микрометрии // Сорбционные и хроматографические процессы. 2021. Т. 21. № 5. С. 661.

DIGITAL COLOROMETRIC ANALYSIS OF AQUEOUS AND WATER-ORGANIC SYSTEMS USING HYDROPHILIC CROSSLINKED POLYVINYL ALCOHOL–MAGNETITE COMPOSITE FILMS

I. S. Shemelev^{a,*}, T. V. Zinoviev^a, A.V. Ivanov^a, N. B. Ferapontov^a

^a *Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry
Moscow, Leninskie gory, 1, p. 3, GSP-3, 119991*

^b *Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences
Moscow, Leninsky Prospekt, 31, 119991*

*E-mail: shchemelev_93@mail.ru

Abstract. The use of the crosslinked polyvinyl alcohol–magnetite composite films as sensitive elements for determining the composition of aqueous solutions by digital colorimetry is described. A new approach to the production of composite materials of the composition hydrophilic polymer–magnetite by precipitation of Fe₃O₄ particles in ammonia vapor is proposed. The sensor films obtained in this way were used to determine the volume fraction of alcohol in products with a high alcohol content. The limit of ethanol determination was 63 vol.% isopropanol – 24 vol.%. The proposed sensory materials have been tested in the analysis of liquid hand antiseptics.

Keywords: composite sensor materials, hydrophilic polymers, digital colorimetry, water-alcohol systems

УДК 543.08:001.891.55

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ АЗОЛОТРИАЗИНОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЭНДОМЕТРИТА У КОРОВ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ

© 2024 г. Т. А. Кучменко^{a, b, *}, Д. Ю. Вандышев^c, В. Н. Скориков^d, Р. У. Умарханов^a,
Х. С. Шихалиев^c, П. В. Середин^c, В. В. Ягов^b, В. И. Михалев^d

^aВоронежский государственный университет инженерных технологий
просп. Революции, 19, Воронеж, 394036, Россия

^bИнститут геохимии и аналитической химии им. В. И. Вернадского
Российской академии наук

ул. Косыгина, 19, Москва, 119334, Россия

^cВоронежский государственный университет
Университетская пл., 1, Воронеж, 394018, Россия,

^dВсероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии
ул. Ломоносова, 144б, Воронеж, 394087, Россия

*E-mail: tak1907@mail.ru

Поступила в редакцию 07.12.2023 г.

После доработки 11.04.2024 г.

Принята к публикации 15.04.2024 г.

Рассмотрены результаты эксперимента по тестированию возможности применения растворов 6-оксо-2-фенилимидазо[1,2-*b*]пиридо[4,3-*e*][1,2,4]триазин-7(6*H*)-ил)уксусной кислоты на планшетах и целлюлозных носителях для регистрации избыточного, относительно биологически нормального, содержания летучих органических соединений, которые сопровождают воспаления эндометрия. Флуоресцентные свойства красителя изучены с использованием гинекологической слизи коров, отобранной в разные периоды (до, после родов) и носовой слизи новорожденных телят. Отклик тест-систем сопоставлен с клинически установленными диагнозами коров, результатами микробиологических исследований. Проведена оценка ложноположительных (не более 11%) и ложноотрицательных (2%) срабатываний, других характеристик (специфичность, правильность, прецизионность) тест-систем на основе 6-оксо-2-фенилимидазо[1,2-*b*]пиридо[4,3-*e*][1,2,4]триазин-7(6*H*)-ил)уксусной кислоты. Рассмотрена возможность применения данного флуорофора для экспрессной диагностики воспаления эндометрита у коров в режиме “на месте”.

Ключевые слова: “на месте”, тест-системы, органические флуорофоры, воспаление, анализ слизи, эндометрит, коровы.

DOI: 10.31857/S0044450224090032, EDN: tiyfb1

Производственная реализация генетического потенциала высокопродуктивных коров сдерживается рядом факторов. Среди них наиболее актуальной общемировой проблемой является снижение плодовитости и долголетия животных по причине воспалительных заболеваний матки (метритов), развивающихся в послеродовой период. В высокопродуктивных стадах они регистрируются у 30–70% и более животных, приводят к большим экономическим потерям, связанным с расстройством репродуктивной функции, лактации и большими затратами на лечение [1–5].

В настоящее время послеродовой метрит рассматривается как типичная факторная инфекционная патология [6–8]. Развитие воспалительного процесса в матке животных после родов связано с инфицированием родовых путей ассоциациями различных патогенных и потенциально патогенных микроорганизмов, которые нередко (в 75% случаев) сочетаются с грибами рода *Candida*, *Mucor*, *Aspergillus* [6, 7, 9, 10]. При этом тяжесть протекания заболевания связана не только с патогенной и условно патогенной микрофлорой, но и с токсичными продуктами ее жизнедеятельности, вызывающими

расстройство иммунных и обменных процессов в тканях матки. Инфекционная патология не ограничивается только коровами. При микробиологическом исследовании из верхних отделов респираторного тракта новорожденных телят выделена идентичная микрофлора, изолированная от заболевших послеродовым метритом коров, что способствует развитию респираторных заболеваний молодняка [11]. Это, в свою очередь, приводит к снижению выживаемости телят и также требует затрат на лечение и контроль над их состоянием.

В результате многочисленных исследований удалось создать теоретическую основу, разработать меры профилактики и борьбы с данным заболеванием. Для предотвращения потерь поголовья животных важное место отводят диагностическим методам и их возможностям. Основными методами диагностики острых послеродовых метритов считаются клинико-акушерский [12, 13], ультразвуковой [1, 12, 13], гистологический и цитологический [13]. Данные методы являются точными, однако они применяются на поздних послеродовых сроках. Кроме того, они дорогостоящие, требуют высокой квалификации специалистов и больших затрат времени, недостаточно технологичны в условиях хозяйств. Отбор образцов для проведения биопсии отрицательно влияет на фертильность коров [13], поэтому в настоящее время гистологический и цитологический методы не находят широкого применения на практике для диагностики воспалительных заболеваний матки у коров в режимах “на месте” и “реального времени”. В большинстве случаев применяется клиническое обследование, которое не всегда информативно в первые дни после родов, весьма трудоемкое и продолжительное по времени.

Совершенствование существующих алгоритмов, разработка новых методов прогнозирования и ранней диагностики острых послеродовых метритов у коров – важное направление исследований, которые будут способствовать решению данной проблемы. Необходима разработка диагностического оборудования и других средств, с помощью которых можно неинвазивно, быстро и с высокой точностью поставить диагноз, оценить терапевтическую эффективность и риски возникновения инфекционной патологии.

Наиболее перспективным и малоизученным подходом к решению такого рода задач является применение простых и чувствительных тест-систем для полевого анализа на основе флуоресцентных зондов. Способ основан на измерении интенсивности флуоресценции молекул-зондов в малом объеме биологических сред. Тщательный анализ литературы и патентный поиск информации по ранней диагностике послеродовых эндометритов с применением таких систем

не дал результатов, систематические исследования отсутствуют.

В качестве флуорофоров при разработке полевых тест-систем актуально применение органических агентов, в частности азолотриазинов, которые имеют ярко выраженную и стабильную люминесценцию [14–16]. Что касается люминесцентных свойств, среди возможных комбинаций триазинового и азольных циклов в молекуле биофлуорофора представляют интерес имидазо[1,2-*b*][1,2,4]триазины. Люминесценция имидазотриазинов в зависимости от природы среды и ее биоактивности хорошо изучена, поэтому их применяют в качестве флуоресцентных зондов для различных биомедицинских приложений [17–20]. Недостатком имидазотриазиновых красителей, в отличие от линейно связанных аналогов [21, 22], является низкая интенсивность аналитического сигнала [23–25]. Для решения этой проблемы в структуру таких флуорофоров вводят различные электроноакцепторные функциональные группы и/или дополнительное пиридиновое кольцо [26, 27]. Предварительные испытания на модельных биообъектах [28] показали, что такие красители демонстрируют максимальный аналитический отклик по сравнению со своими предшественниками.

Цель настоящей работы – разработка способа выявления воспалений эндометрия у коров в режиме “на месте” по результатам тест-анализа слизи с визуальной детекцией флуоресценции органического флуорофора.

Задачи пилотного эксперимента заключались в следующем:

- тестировании флуоресцентных красителей, содержащих остов азолотриазинов, на модельных растворах и парах летучих органических соединений (ЛОС) – маркерах воспаления;
- выборе оптимального флуорофора для последующих испытаний на цервикальной слизи коров и носовых выделений телят;
- поиске оптимальных носителей реагента для применения в виде раствора (планшет) и без растворителя (бумажные полоски, тупфер);
- оценке селективности, чувствительности тест-систем на основе органического флуорофора к продуктам измененного метаболизма в матке коров, связанного с развитием заболевания, представленным летучими органическими соединениями (амины, кислоты, кетоны, спирты);
- установлении корреляции между типом (тушение, усиление, изменение длины волны свечения) и интенсивностью аналитического сигнала флуорофора в цервикальной слизи коров и наличием, выраженностью воспаления у них эндометрия;

- оценке правильности предсказания состояния эндометрия у коров по результатам применения тест-систем на основе предложенного флуорофора в полевых условиях, в том числе в разные периоды после родов, на ограниченной группе животных;
- оценке возможности применения тест-систем для мониторинга биологической обсемененности носоглотки новорожденных телят от изученной группы коров.

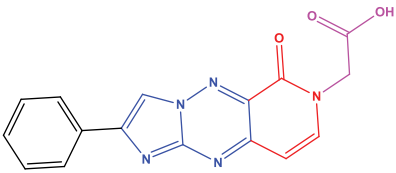
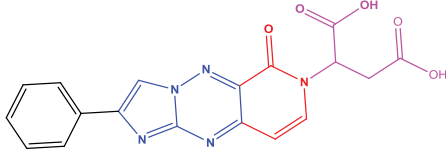
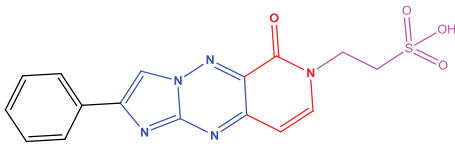
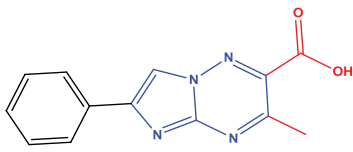
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Флуорофоры. В качестве потенциальных аналитических реагентов изучали содержащие фрагмент имидазо[1,2-*b*][1,2,4]триазина соединения Z1–Z4, ключевые характеристики которых представлены в табл. 1. Синтез реагентов проводили по ранее описанной методике [26]. Для последующих испытаний красителей готовили их растворы в пропанол-2 и хлороформе с концентрацией реагента 1 мг/см³.

В ходе предварительного эксперимента установили, что выбранные реагенты обладают различными люминесцентными и другими физическими свойствами, несмотря на их структурное подобие. Для аналитического применения необходимо было выбрать реагент с улучшенными свойствами, который сохраняет свои характеристики в различных средах и в различных матрицах, а также позволяет наблюдать их значительные изменения при взаимодействии с аналитами. Особенно важно, чтобы эти изменения могли фиксироваться визуально.

Тест-вещества. Оценили возможность взаимодействия флуорофоров с водными растворами ЛОС и изменения при этом их спектральных свойств. Для каждого ЛОС готовили растворы на двух уровнях концентраций: граница нормы (низкие концентрации X) и заболевания (высокие концентрации X*), которые выбирали индивидуально [29–40]. В качестве широко распространенных биомаркеров воспаления выбрали тест-вещества из рядов кетонов, карбоновых

Таблица 1. Исследуемые органические флуорофоры на основе имидазотриазинов

Структура и название по правилам ИЮПАК	Маркировка	Молярная масса, г/моль	Максимум поглощения, нм*
 2-(6-Оксо-2-фенилимидазо[1,2- <i>b</i>]пиридо[4,3- <i>e</i>][1,2,4]триазин-7(6H)-ил)уксусная кислота	Z1	321	372 496
 2-(6-Оксо-2-фенилимидазо[1,2- <i>b</i>]пиридо[4,3- <i>e</i>][1,2,4]триазин-7(6H)-ил)янтарная кислота	Z2	379	374 494
 2-(6-Оксо-2-фенилимидазо[1,2- <i>b</i>]пиридо[4,3- <i>e</i>][1,2,4]триазин-7(6H)-ил)этансульфоновая кислота	Z3	371	379 504
 3-Метил-6-фенилимидазо[1,2- <i>b</i>][1,2,4]триазин-2-карбоновая кислота	Z4	254	361 523

*Данные получены при анализе растворов красителей в диметилформамиде ($c = 1 \times 10^{-5}$ мг/см³).

кислот и аминов х. ч. (ООО “ХромЛаб”, ГК “ЭКРОС”, Россия; маркировка веществ в исследовании представлена в табл. 2).

Методы исследования. Растворы красителей исследовали в ВГУ и ГЕОХИ РАН с использованием стандартных методик абсорбционной, ИК- и люминесцентной спектроскопии с помощью спектрофотометра USB2000+ (OceanOptics, США). Спектры фотolumинесценции получали с помощью автоматического спектрального комплекса с монохроматором МДР-4 (ЛОМО, Россия), оснащенного приемником ФЭУ R928P (Hamamatsu, Япония) и фотодиодом PDF10C/M (Thorlabs Inc., США).

Визуальную флуориметрию на планшетах с оцифровкой результатов взаимодействия флуоресцентных зондов Z1–Z4 и тест-веществ проводили при естественном освещении и на денситометре ДенСкан (ООО “НЦ “Ленхром”, Россия) при двух длинах волн возбуждения (365, 254 нм). Планшеты формировали по единой схеме добавления веществ с двукратным повторением (рис. 1). Для веществ с явным или сомнительным аналитическим откликом лунки дополнительно повторяли.

Флуоресценцию на целлюлозных носителях изучали визуально и с помощью лазера, спектры регистрировали на спектрометре Maya 2000 Pro (OceanOptics, США). Такой вариант оценки эффекта взаимодействия флуоресцентных зондов

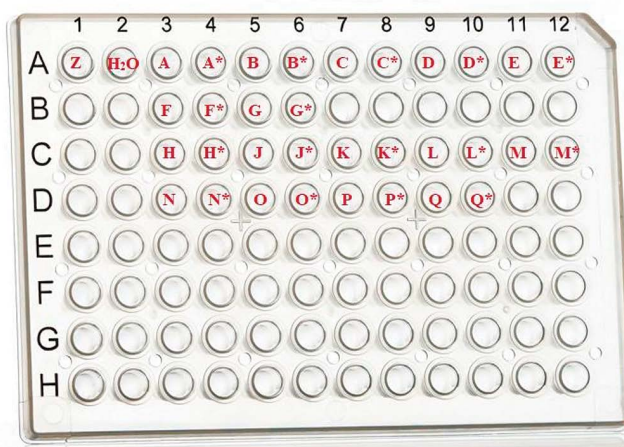


Рис. 1. Схема добавления растворов тест-веществ разной концентрации к раствору исследуемого флуорофора. Звездочкой отмечены системы, в которых применяли растворы с высокими концентрациями веществ (X*).

и тест-веществ наиболее информативен, так как позволяет изучить реакцию реагента на носители любой природы и паров тест-веществ с исключением влияния растворителей.

Характеристика биопроб. Отбор проб цервикально-вагинальных выделений и маточно-го экссудата проводили по методу, описанному в работе [41], с применением стерильных зондов-тампонов и акушерской ложки Панкова. Биопробы после отбора помещали в стерильные пробирки. В обучающей и проверочной выборке участвовало 27 новотельных животных. Каждое животное исследовали не менее трех раз в периоды до, 3, 6, 18 дней после отела.

Биопробы животных параллельно анализировали на содержание микроорганизмов (*E. coli*, *Actinomycespyogenes*, *Staph. aureus*, *Staph. epidermidis*, *Pr. Vulgaris*, *Fusobacteriumnecroforum*, *Actinomycespyogenes*, *Staph. epidermidis*, *Bacillusubtilis*, *Staph. saprophyticus*, *Bacilluslicheniformis*, а также микроскопические грибы).

Отобранные животные имели разный микробиоценоз. Эти признаки, наряду с клиническими признаками состояния животных в выборке, положены в основу деления их на группы “норма”/“эндометрит”. В группу “эндометрит” входили животные и биопробы от них с явными, сомнительными признаками заболевания, а также биопробы коров после пролечивания (хроническая форма).

Пробы носовой слизи телят ($n = 4$) отбирали стерильными ватными тампонами, которые помещали в носовые ходы телят, 5-тикратными круговыми движениями аккуратно проворачивали и помещали в стерильные пробирки. Пробы у телят отбирали однократно, через 1–3 дня после рождения.

Таблица 2. Летучие органические тест-вещества (биомаркеры патологии)

Тест-вещество		Маркировка
Кетоны	Ацетон	J
	Бутан-2,3-дион	E
	Циклогексанон	K
Карбоновые кислоты	Пропионовая	C
	Масляная	F
	Молочная	G
	Уксусная	N
	3-Фенилмолочная	M
Амины	Этаноламин	H
	Дипропиламин	P
	Бутиламин	A
	Изобутиламин	L
	Циклопентиламин	O
	Триэтиламин	D
	Морфолин	B
	Аммиак	Q

Методика применения тест-систем для анализа биопроб. Диагностика воспаления у коров и оценка состояния микрофлоры в носовой слизи телят в режиме “на месте” с применением оптимального флуорофора включала отбор 5–10 мл цервикальной слизи у коровы, помещение ее в стерильную пробирку, добавление 3–5 мл воды, встряхивание и погружение в раствор тест-системы различной природы, пропитанной хлороформным раствором реагента. Систему выдерживали 2–5 с и визуально, в условиях естественного освещения и при использовании портативной УФ-лампы с длиной волны 365 нм (Раритет Интернешнл, Россия) регистрировали изменения интенсивности и окраски реагентной зоны по сравнению с исходным (нулевым) состоянием реагента. Если интенсивность окраски реагента уменьшается или исчезает при естественном освещении, а при освещении тест-системы УФ-светом с длиной волны 356 нм в биопробе появляется зеленая флуоресценция, то отклик тест-системы считали положительным, фиксировали наличие или развитие воспаления в матке и эндометрита. Интенсивность изменения связывали с выраженностью воспаления [42]. Пробы из обучающей и проверочной групп тестировали в лунках (после разбавления дистиллированной водой) и с применением тупферов, а также для проверки правильности принятия решения добавляли раствор реагента в смыв этих же биопроб, предварительно отобранный после добавления воды. Для отдельной группы проб (отобраны в один день) проверяли возможность оценки состояния не только добавлением раствора реагента к смыву в лунках, но и параллельно с применением тупферов (№№ проб 100, 4918, 4648, 5068, 2238, 4768).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Последние достижения в области аналитических технологий, направленных на распознавание и определение ЛОС в матрицах человека и животных, включая выдыхаемый воздух, мочу, слюну, кровь, фекалии, пот, сперму, выдох кожи [30–40, 43–45] вызывают растущий интерес в связи с информативностью ЛОС для ранней диагностики, скрининга и мониторинга многих заболеваний и состояний [45–47]. Являясь конечными продуктами клеточного метаболизма, ЛОС могут предоставлять информацию о состоянии внутриклеточного обмена веществ. Помимо этого известно, что микроорганизмы, участвующие в патогенезе большинства воспалительных заболеваний, способны синтезировать большое количество летучих и средне-летучих соединений, относящихся в основном к органическим соединениям.

Для исследования профиля ЛОС применяют хромато-масс-спектрометрию, обеспечивающую эффективное разделение компонентов сложной смеси, их идентификацию и оценку относительного содержания. Благодаря этому методу сформированы базы данных идентифицированных легколетучих (ЛОС) и среднелетучих (СЛОС) органических соединений (например, база mVOC 3.0 database: <https://bioinformatics.charite.de/mvoc/>). База включает свыше 2000 соединений, выделяемых различными видами микроорганизмов (бактериями и грибами) [48, 49], а также образующихся в ходе различных заболеваний [47, 48, 50–57]. Так, среди маркерных ЛОС/СЛОС преобладают алкены, спирты, кетоны, терпены, бензоиды, пиразины, кислоты, сложные эфиры, амины и серосодержащие производные [48, 49, 58–60]. При выборе целевых аналитов или их смесей при постановке эксперимента учитывали, что многие ЛОС являются нативными и присутствуют в биопробах в нормальном, здоровом состоянии животных и людей. Для таких веществ важным критерием оценки патогенности является их концентрация.

На первом этапе работы изучали микробиоту цервикально-вагинальной слизи и экссудата животных, отобранных по клиническим признакам в группы “норма (отсутствие эндометрита)” и “эндометрит” (табл. 3). Установили, что у коров с физиологическим течением послеродового периода степень микробной контаминации достоверно ниже более чем в 3.3 раза ($P < 0.001$) по сравнению с заболевшими послеродовым метритом животными. У здоровых животных из цервикально-вагинального секрета изолированы лактобактерии в 100%, бифидобактерии в 80% случаев. Это в 4.0–5.0 раз ($P < 0.001$) превышает аналогичные показатели для биопроб от заболевших коров и указывает на высокий уровень биологической защиты репродуктивного тракта животных из группы “норма”. Также у здоровых животных изолировали *Bacillus subtilis*, *Staph. Saprophyticus*, *Bacillus licheniformis*. У животных с акушерской патологией из маточного экссудата изолировали *E. coli*, *Actinomyces pyogenes*, *Staph. aureus*, *Staph. epidermidis*, *Pr. Vulgaris*, *Fusobacterium necroforum*, *Actinomyces pyogenes*, *Bacillus subtilis*, *Staph. saprophyticus*, *Bacillus licheniformis*, а также микроскопические грибы. На основании комбинаций микроорганизмов и биохимических процессов, участвующих в формировании воспаления эндометрия, а также данных [47–57] для дальнейших испытаний выбрали основные патогенные ЛОС. Среди них доминируют аммиак и низкомолекулярные амины.

Выбор оптимального флуорофора. Выбор группы потенциальных флуорофоров для решения поставленных задач основан на результатах предшествующих исследований, в ходе которых были проанализированы различные производные

Таблица 3. Результаты микробиологических исследований коров с физиологическим и патологическим течением послеродового периода

Проба	Отбор пробы после отела	Микробиология	Степень микробной контаминации, КОЕ/мл секрета	Предварительный диагноз / группа
100	Через 2 недели после отела	Лактобактерии и бифидобактерии не выделены . Изолированы <i>E. coli</i> , <i>Actinomyces pyogenes</i> , <i>Staph. aureus</i>	2470.0	Эндометрит/ “эндометрит”
4918	Через 2 недели после отела	Выделены лактобактерии и бифидобактерии. Изолированы <i>Staph. epidermidis</i> , <i>Staph. Saprophyticus</i> и <i>Bacillus licheniformis</i>	738.0	Здорова/ “норма”
4648	Через 1.5 недели после отела	Выделены лактобактерии и бифидобактерии. Изолированы <i>Staph. Epidermidis</i> и <i>Bacillus subtilis</i>	625.0	Здорова/ “норма”
5068	Через 1.5 недели после отела	Лактобактерии и бифидобактерии выделены в незначительных количествах . Изолированы <i>E. coli</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Staph. aureus</i> , микроскопические и дрожжеподобные грибы	1470.0	Здорова/ “норма”
2238	Через 1.5 недели после отела	Лактобактерии и бифидобактерии не выделены. Изолированы <i>E. coli</i> , <i>Fusobacterium necroforum</i> , <i>Staph. aureus</i> , <i>Micoplasmabovis</i> , микроскопические грибы	2520.0	Эндометрит/ “эндометрит”
4768	Через 1.5 недели после отела	Лактобактерии и бифидобактерии выделены в незначительных количествах . Изолированы <i>E. Coli</i> , <i>Actinomyces pyogenes</i> , микроскопические грибы	2720.0	Эндометрит/ “эндометрит”

азолотриазин [26, 28]. Ключевыми факторами отбора являлись простота и надежность визуальной детекции аналитического сигнала, зависящие от люминесцентных свойств реагентов. Установили, что системы, содержащие остоу пиразоло- и триазолотриазин, характеризуются наличием максимумов поглощения в коротковолновой области спектра (190–200 нм), поэтому их применение ограничено для создания визуальных тест-систем доклинической диагностики в полевых условиях. Помимо этого, независимо от растворителей растворы таких красителей подвергаются флуоресцентной деградации, зависящей от способа и времени хранения. В то же время растворы производных имидазолотриазин характеризуются несколькими максимумами поглощения в диапазоне длин волн 361–504 нм, отличаются высокими фотостабильностью при хранении, интенсивностью люминесценции и выраженностью аналитического отклика. Дальнейшее

математическое моделирование их взаимодействия с биоматриком и ЛОС позволило выделить четыре лидерные структуры для целей неинвазивной доклинической диагностики Z1–Z4 [26, 28].

Для проверки возможности применения выбранных реагентов для решения задачи неинвазивной доклинической диагностики эндометрита провели серию экспериментов по изучению интенсивности их люминесценции на различных носителях и в 96-канальных иммунохроматографических планшетах.

Исследуемые реагенты (табл. 1) проявляют свойства флуоресцентных кислотно-основных индикаторов. Однако результаты промежуточных тестов показали, что их флуоресценция значительно подавляется 60 мМ HCl со смещением максимума поглощения с 568 до 562 нм (рис. 2). В то же время растворы аммиака аналогичной концентрации незначительно повышают интенсивность флуоресценции реагентов, что говорит

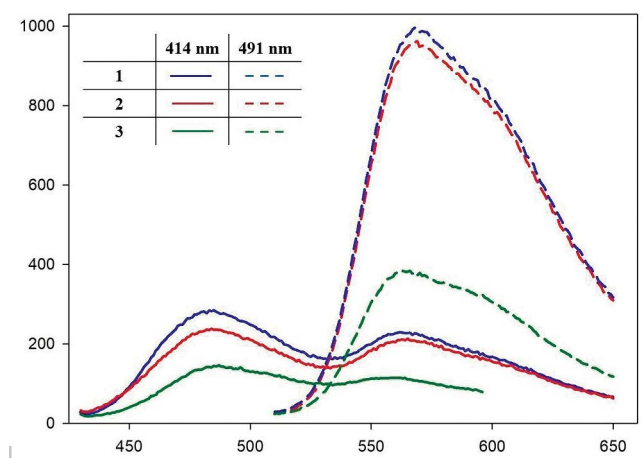


Рис. 2. Фотолюминесценция (на примере реагента Z1) в воде без добавок (1), с добавлением 14 мМ раствора аммиака (2) и 60 мМ HCl (3).

об антагонистическом характере откликов реагента на кислоты и основания. Полученные результаты позволили оценить возможность раздельной классификации аналитического отклика выбранных флуоресцентных реагентов в присутствии органических кислот или оснований в биопробах. Выдвинута гипотеза о том, что при воспалении (эндометрит) биопробы содержат большое количество аминов, что приводит в соответствии с предварительными исследованиями к увеличению интенсивности флуоресценции при применении этих реагентов в смывах биопроб. Другие процессы и микроорганизмы могут повышать кислотность биопроб (грибы), что приведет к тушению флуоресценции вплоть до полного обесцвечивания тест-системы в водной вытяжке. Для подтверждения этой гипотезы далее проводили эксперимент со стандартными растворами тест-веществ.

Так как биопробы представляют собой сложную систему с большим содержанием воды, далее визуально оценивали аналитический отклик растворов органических флуорофоров Z1–Z4 в присутствии тест-веществ на планшете. К растворам реагентов добавляли водные растворы тест-веществ минимальной (физиологическая норма) и максимальной (не норма) концентраций. Примеры планшетов представлены на рис. 3. За аналитический сигнал принимали любые видимые при естественном освещении, при 365 и 254 нм изменения в лунках: подавление, усиление флуоресценции или изменение окраски.

Результаты планшетного тестирования взаимодействия флуорофоров с тест-веществами представлены в табл. 4. Для всех исследуемых красителей наблюдается частичное или полное тушение флуоресценции (эмиссии) красителей в чистой воде, что может быть объяснено коллизией молекул гидрофобных зондов.

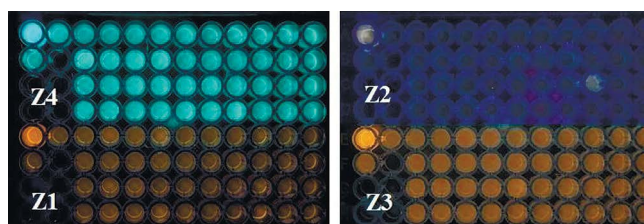


Рис. 3. Примеры фото планшетов при нагрузке растворов органических реагентов тест-веществами при УФ-освещении с длиной волны 365 нм.

На основании полученных результатов выбрали 6-оксо-2-фенилимидазо[1,2-*b*]пиримидо[4,3-*e*][1,2,4]триазин-7(6H)-ил)уксусную кислоту (Z1) как наиболее эффективный флуорофор для планшетных тест-систем. При этом карбоксильная группа в молекуле реагента обеспечивает селективное и обратимое связывание с азотсодержащими аналитами. Это приводит к изменению интенсивности окраски флуорофора не только в УФ-области, но и при естественном освещении, что позволяет говорить об универсальном способе оценки изменений в тест-системах на их основе: при естественном и УФ-освещении. Эта особенность важна для обеспечения возможности экспрессного применения тест-систем в полевых условиях.

Увеличение интенсивности люминесценции соединения Z1 в водных растворах аналитов, возможно, связано с принадлежностью его к группе молекулярных роторов (рис. 4). При этом повышение pH способствует образованию водородных связей между карбонильной группой и метиленовыми протонами, замедляя вращение фрагмента аминоксусной кислоты. Кроме того, слабощелочная среда способствует ионизации молекул красителя и изменению межмолекулярных взаимодействий с молекулами воды и ЛОС. В то же время в кислой среде за счет уменьшения вероятности образования водородных связей происходит изменение конформации.

Несмотря на простоту и наглядность, применение планшетов в полевых условиях не является оптимальным, поэтому оценили возможность переноса флуорофора на целлюлозные планарные носители (бумажные тест-полоски) и тупферы. Для этого равные объемы хлороформного раствора Z1 наносили на целлюлозную подложку, обмакивали тупферы в раствор на 2 с и высушивали при комнатной температуре. Изменение интенсивности люминесценции оценивали визуально при активации системы УФ-лампой с длиной волны 365 нм и твердотельным лазером. Установили, что на целлюлозных носителях в парах приоритетных для воспаления ЛОС наблюдается инверсия аналитического отклика (рис. 5) по сравнению с системами на основе растворов

Таблица 4. Результаты планшетного тестирования органических реагентов

Тест-вещество	Аналитический отклик							
	Z1		Z2		Z3		Z4	
	VL	365 нм	VL	365 нм	VL	365 нм	VL	365 нм
H ₂ O	0	↓	0	↓	0	↓	•	↓
Ацетон	0	0	0	↓	0	↓	•	↑
Бутан-2,3-дион	0	↓	0	↓	0	↓	•	↓
Циклогексанон	0	0	0	↓	0	↑	•	↑
Пропионовая кислота	0	0	0	↓	0	↓	•	↓
Масляная кислота	0	0	0	↓	0	↓	•	0
Молочная кислота	0	0	0	↓	0	↑	•	↑
Уксусная кислота	0	↑	0	↓	0	↑	•	↑
3-Фенилмолочная кислота	0	↓	0	↓	0	↓	•	0
Этаноламин	•	↑	0	↓	0	↓	•	0
Дипропиламин	•	↓	0	↓	0	↓	•	0
Бутиламин	•	↑	•	↓	0	↓	•	↓
Изобутиламин	•	↑	0	↑	0	↓	•	0
Циклопентиламин	•	↑	0	↓	0	↓	•	0
Триэтиламин	•	0	0	↓	0	↓	•	↓
Морфолин	•	↑	0	↓	0	↑	•	↓
Аммиак	•	↑	0	↓	0	↓	•	↑

*VL – видимый свет, ↑ – усиление люминесценции, ↓ – тушение флуоресценции, 0 – нет изменений, • – изменение интенсивности окраски.

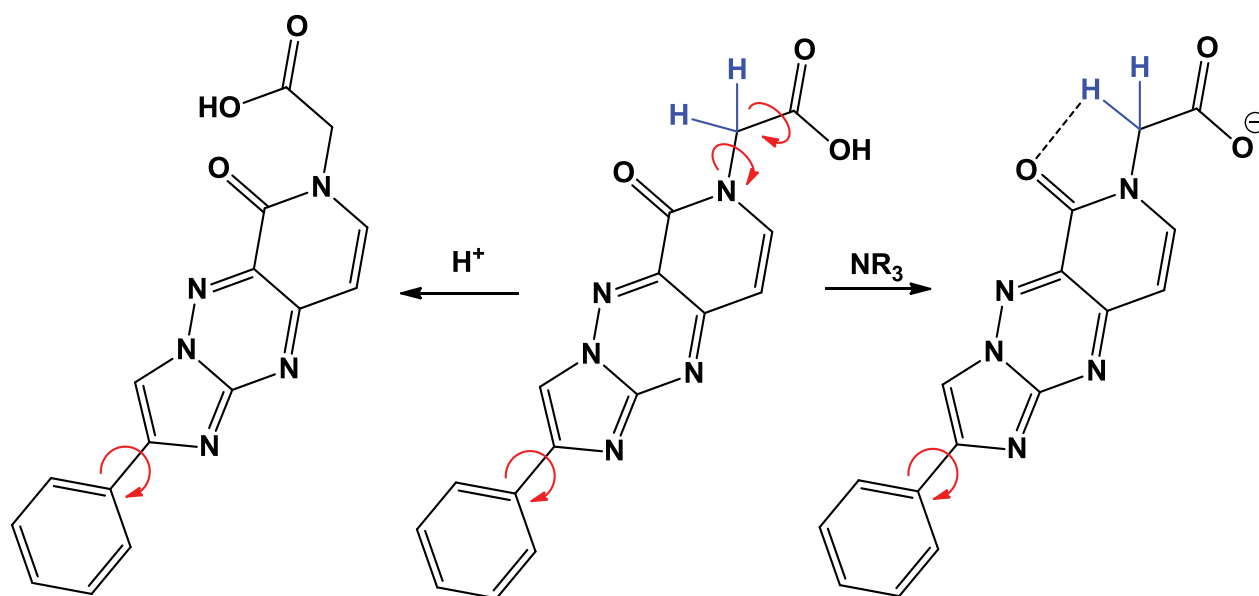


Рис. 4. Конформационная динамика 6-оксо-2-фенилимидазо[1,2-б]пиридо[4,3-е][1,2,4]триазин-7(6Н)-ил)уксусной кислоты.

(планшетные тесты). Происходит постепенное снижение интенсивности люминесценции вплоть до полного тушения при взаимодействии аммиака, аминов с выбранным реагентом (рис. 5а). При естественном освещении фиксировали аналогичную инверсию аналитического отклика (рис. 5б). Полученные результаты согласуются с результатами фотOLUMИНЕСЦЕНТНОГО анализа бумажных тест-полосок (рис. 5в). Подобное поведение вызвано возможной абсорбцией части света целлюлозным носителем, снижением “подвижности” красителя вне растворителя и, как следствие, снижением эффективности перехода электронов в возбужденное состояние.

Результаты модельных испытаний позволяют предположить высокую селективность Z1 к аминам, аммиаку — приоритетным биомаркерам воспаления, а следовательно, положительно оценить возможность его применения в доклинической неинвазивной диагностике воспалений

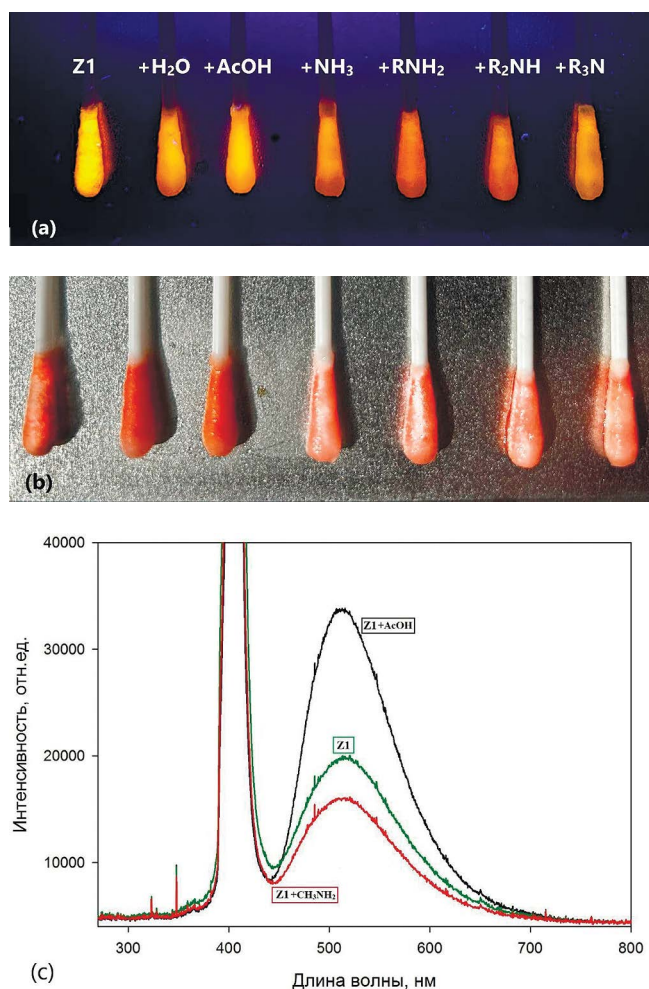


Рис. 5. Поведение Z1 на тупферах при УФ-освещении с длиной волны 365 нм (а), естественном освещении (б) и его фотOLUMИНЕСЦЕНТНОГО анализа на бумажных тест-полосках под действием твердотельного лазера с длиной волны 405 нм (в) при взаимодействии с различными летучими органическими соединениями.

и эндометрита по результатам тестирования слизи.

Сравнение результатов ветеринарного осмотра и применения тест-систем на обучающей группе животных. На обучающей выборке животных установили взаимосвязь изменения люминесценции и определили эффективность флуорофора как индикатора состояния здоровья животных. За основу правильной оценки отклика красителя Z1 брали результаты ветеринарного осмотра, хотя доля ложных оценок специалистом допускается. В экспериментах опробовали разные способы применения раствора реагента.

К пробам цервикальной слизи, отобранным от пяти животных через различные промежутки времени после отела, разбавленным водой и помещенным в лунки планшета, добавляли раствор Z1. Установили, что в зависимости от степени воспаления матки животного интенсивность флуоресценции лунок под воздействием УФ-лампы с длиной волны 365 нм различается. Это может служить визуальным индикатором состояния здоровья животного при наличии исходного стандарта. Также установили, что результаты тестирования не зависят от времени отбора образцов слизи после отела, а определяются только уровнем воспаления. Это указывает на возможность эффективного применения красителя Z1 для определения состояния здоровья животного независимо от времени отбора пробы в пост- или дородовой период.

Из-за сложностей, возникающих при применении планшетов в полевых условиях, более удобными оказались полоски или тупферы. Во время профилактического осмотра новой группы коров ветеринаром были отобраны пробы цервикальной слизи объемом не менее 5–10 мл (рис. 5а). Полученные образцы помещали в стерильные пробирки и смешивали с небольшим количеством раствора испытуемого флуоресцентного реагента (рис. 6а). Результаты, полученные под действием УФ-света, фиксировали и заносили в табл. 5. Установили, что в пробах слизи от животных № 1 (100) и № 4 (5068) (рис. 6б) под источником света с длиной волны 356 нм визуально фиксируется флуоресценция зеленого цвета, что связано

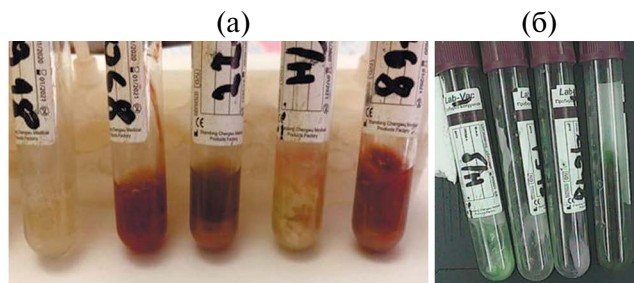


Рис. 6. Пробы цервикальной слизи с добавлением раствора Z1 при естественном (а) и УФ-освещении (б).

Таблица 5. Результаты анализа гинекологической слизи коров из обучающей выборки при взаимодействии проб с Z1

Марки- ровка пробы	Номер лунки на рис. 6	Номер пробы на рис. 6а, б	Диагноз ветеринара / группа	Наличие флуорес- ценции реагента при 356 нм	Соответствие диагнозу	Правиль- ность пред- сказания, %
Раствор реагента в лунках						
10011	3		Здоровая / “норма”	Тушение	Соответствует	91
10012	5		Здоровая / “норма”	Тушение	Соответствует	
10013	4		Начало гнойно- катарального эндометрита / “эндометрит”	Флуоресценция	Соответствует	
10014	6		Начало гнойно- катарального эндометрита / “эндометрит”	Флуоресценция	Соответствует	
10015	7		Начало гнойно- катарального эндометрита / “эндометрит”	Флуоресценция	Соответствует	
100		1	Эндометрит / “эндометрит”	Сильная флуоресценция	Соответствует	
4918		2	Здоровая / “норма”	Отсутствует	Соответствует	
4648		3	Здоровая / “норма”	Отсутствует	Соответствует	
5068		4	Здоровая / “норма”	Слабая флуоресценция	Зафиксировано начало развития воспаления	
2238			Эндометрит / “эндометрит”	Флуоресценция	Соответствует	
4768			Ярко выраженное восполнение / “эндометрит”	Сильная флуоресценция	Соответствует	
Раствор реагента на тупфере						
100			Здоровая / “норма”	Без изменений	Соответствует	67
4918			Здоровая / “норма”	Обесцвечивание	Не соответствует	
4648			Здоровая / “норма”	Обесцвечивание	Зафиксировано начало развития воспаления	
5068			Эндометрит / “эндометрит”	Частичное обесцвечивание	Соответствует	
2238			Ярко выраженное воспаление / “эндометрит”	Обесцвечивание	Соответствует	
4768			Эндометрит / “эндометрит”	Обесцвечивание	Соответствует	

с развитием воспаления и эндометрита. В пробах № 2 (4918) и 3 (4648) флуоресценция отсутствует. Аналогично фиксировали изменения в пробирках с пробами от животных под инвентарными номерами 2238 (№ 5), 4768 (№ 6) (табл. 5), для которых в этих условиях зафиксирована флуоресценция разной интенсивности. Как и в случае предварительных экспериментов, при использовании тупферов происходит инверсия аналитического отклика, отмеченная как при естественном освещении, так и при 365 нм. Результаты тестирования проб разными способами – в лунках и на тупферах – показали правильность предсказания диагноза, совпадающего с диагнозом специалиста, соответственно 91 и 67% (табл. 5). Ложные предсказания в этих пробах, не соответствующие клиническому диагнозу, следует воспринимать скорее верными, так как чувствительность к маркерам воспаления у реагента очень высокая, в то время как клинические исследования и тщательный осмотр специалистом проводятся редко. За время от момента осмотра до отбора пробы ситуация у животного могла измениться в худшую сторону. Ложноположительный ответ тест-системы в этом случае также благоприятен, так как повышает вероятность повторного исследования и предотвращения развития заболевания в более тяжелой форме или купирования его на ранних стадиях. Ложноотрицательных результатов ни в лунках, ни с тупферами не наблюдали. Необходимо подчеркнуть, что при прямом введении красителя в пробу не зафиксированы ложноположительные или ложноотрицательные результаты. Этот способ наиболее точен по прогнозу, но более затратен по расходу реагентов.

Для проб, отобранных в разные дни от шести животных, с выводом специалиста о состоянии здоровья совпали результаты предсказания для пяти коров из разных групп (“норма”, “эндометрит”). Ложно отнесенные в группу “эндометрит” биопробы коровы № 5068 по результатам анализа тест-реагентом объясняются тем, что животное на момент первичного исследования относилось к группе “норма”, но через две недели ветеринаром были зафиксированы признаки развития эндометрита. Это значит, что на момент даже первичного осмотра и исследования биопроб (третьи сутки после отела) у животного состояние было уже отличным от нормы и начиналось воспаление. Применение флуоресцентного реагента позволяет на более ранней стадии, чем осмотр специалиста, установить начало развития воспаления.

Для мониторинга развития воспалительных процессов провели дополнительные испытания на пробах слизи, отобранных у восьми животных в разные временные промежутки (табл. 6). Визуальную оценку аналитического отклика проводили при естественном освещении тупферов после выдерживания их в пробах слизи.

Установили, что тест-системы на тупферах хорошо определяют воспаление и усиление эндометрита даже на фоне беременности (№ 14136). Ложноотрицательных и ложноположительных оценок на день осмотра в этой группе получили по одной из восьми проб.

При повторном тестировании этих животных через два месяца ситуация резко ухудшилась. Только у трех из восьми коров не развился эндометрит. У всех отелившихся животных (№№ 13303, 14136, 14181) к моменту повторного контроля эндометрит развился существенно. Правильность диагностики по сигналам на тупфере при первом тестировании составила 75%, при повторном тесте этой группы – 100%.

Данные, полученные на обучающей выборке животных, позволяют сделать ряд предварительных выводов:

- низкая способность к цитоокрашиванию и высокая стабильность растворов Z1 [28] позволяют объяснить изменение интенсивности люминесценции за счет связывания с азотсодержащими ЛОС, что может быть использовано для выявления воспалительных процессов;
- ложноположительные результаты вызываются присутствием крови в пробе;
- ложноотрицательные результаты при двойном способе оценки аналитического эффекта (при естественном свете и УФ-облучении) связаны только степенью выраженности воспаления.

Проверка правильности предсказания состояния на контрольной группе животных. В качестве проверочных выбраны пробы от восьми животных, не входящих в обучающие выборки. По результатам клинических исследований состояние животных оценивалось как подозрение на воспаление (15119), ярко выраженное воспаление (1409 и 1417) и условно здоровая с патологией задержки последа (7012).

Аналитический сигнал для пробы 1409 четко не определен (табл. 7), однако состояние пробы указывает на явные сильные процессы разложения биотканей, тест в этом случае не имеет диагностического смысла. Для пробы 7012 отсутствие изменения аналитического отклика связано с другими причинами нарушения послеродового состояния (задержка последа), которое не является воспалением. Оценка состояния проб с воспалением и эндометритом разной степени выраженности совпала с выводом специалиста (табл. 7).

Для ярко выраженных воспалений и групп здоровых животных не установлено ложноположительных и ложноотрицательных результатов теста, что позволяет высоко оценить его потенциал для полевых испытаний. Дальнейшие исследования позволят ранжировать более точно

Таблица 6. Результаты испытаний образцов с использованием тупфера с реагентом Z1

Код пробы	Изменения на тупфере / группа		Ветеринарный диагноз	Правильность предсказания, %
	06.02.22	04.04.22		
11354	Без изменений / “норма”	Без изменений / “норма”	Здорова (06.02), здорова (04.04)	75% на дату тестирования 06.02.22; 100% на дату повторного теста 04.04.22
183300	Обесцвечивание / “эндометрит”	Сильное обесцвечивание / “эндометрит”	Эндометрит (25.01), ухудшение состояния (04.04)	
3420	Без изменений / “норма”	Без изменений / “норма”	Эндометрит (25.01), проходит лечение; здорова (06.02 и 04.04)	
2172	Без изменений / “норма”	Без изменений / “норма”	Здорова (06.02), здорова (04.04)	
13303	Без изменений / “норма”	Обесцвечивание / “эндометрит”	8.5–9 месяц беременности – здорова (06.02), эндометрит (04.04)	
18222	Без изменений / “норма”	Обесцвечивание / “эндометрит”	Здорова (06.02), эндометрит (04.04)	
14136	Легкое обесцвечивание / группа не определена	Обесцвечивание / “эндометрит”	8.5–9 месяц беременности – здорова (06.02), эндометрит (04.04)	
14181	Без изменений / “норма”	Обесцвечивание / “эндометрит”	8.5–9 месяц беременности – здорова (06.02), эндометрит (04.04)	

Таблица 7. Результаты анализа гинекологической слизи коров из проверочной выборки при добавлении в пробы тупфера с раствором Z1

Код пробы	Первоначальный диагноз	Изменение цвета тупфера при естественном освещении	Соответствие диагнозу	Правильность предсказания, %
Тупфер с Z1		Без изменений		87
105	Начало воспаления	Легкое обесцвечивание	Соответствует	
107	Здорова	Без изменений	Соответствует	
108	Здорова	Без изменений	Соответствует	
106	Эндометрит	Сильное обесцвечивание	Соответствует	
15119	Подозрение на воспаление	Обесцвечивание	Соответствует	
1409, проба с хлопьями	Эндометрит	Не определено	Явное воспаление по состоянию образца	
1417, проба с кровью	Гнойное воспаление, лохии	Полное обесцвечивание	Соответствует	
7012, проба с измененным цветом	Задержка послеродового последа	Не определено	Соответствует	

и переходные состояния (пролеченные, начало заболевания). Правильность диагностики составила — 87% (табл. 7).

Оценка чувствительности и универсальности тест-систем. Для оценки уровня чувствительности и универсальности анализа с применением тест-средств на основе Z1 выбрали биопробы носовой слизи телят, рожденных коровами из проверочной выборки. Известно, что одной из основных причин перинатальной патологии у новорожденных телят являются микробиологические нарушения в организме маточного поголовья до осеменения и в период беременности. В ряде случаев дисбиозы различного характера, наличие потенциально патогенной и патогенной микрофлоры в родовых путях коров-матерей становятся первичными источниками инфицирования новорожденного [61–62]. Содержание как ЛОС, так и микроорганизмов значительно отличается для носовой и цервикальной слизи соответственно у телят и их матерей. При прочих равных условиях в носовой слизи теленка и в гинекологической слизи матери уровень микробиоты будет существенно различаться и будет меньше в носовых пазухах. Другими словами, если тест-средство позволит распознать рожденных от больных коров телят, то чувствительность его будет удовлетворять потребностям многостороннего простого тест-анализа в условиях хозяйств.

Пробы у телят отбирали однократно (через 1–3 дня после рождения) и помещали в стерильную пробирку с добавлением 3–5 мл воды. После встряхивания в полученный образец опускали тупфер с Z1. Результаты исследований приведены в табл. 8. Установили, что ложноотрицательные результаты наблюдаются при малом объеме пробы носовой слизи. Потенциально высокий

риск развития осложнений после рождения телят выявлен с помощью анализа проб предлагаемым тест-средством за неделю до признаков заболевания. Доля ложноположительных результатов для проб слизи аналогична таким же ошибкам для слизи коров. Данные результаты повышают информативность и эффективность предлагаемых тест-средств для полевых наблюдений за животными в агрокомплексах.

По результатам пилотного исследования установлено, что 6-оксо-2-фенилимидазо[1,2-b]пиридо[4,3-e][1,2,4]триазин-7(6H)-ил)уксусную кислоту (Z1) можно применять в качестве реагента-флуорофора в тест-системах различной природы (планшеты, бумажные тест-полоски, тупферы) для экспрессной диагностики воспаления эндометрита у коров в режиме “на месте”.

Флуоресцентный реагент обеспечивает высокую чувствительность, простоту применения и надежность фиксирования аналитического отклика и принятия решения, позволяет существенно упростить процедуру и повысить производительность мониторинга, снизить экономические и временные затраты на клинические и лабораторные исследования, анализ их результатов, на более ранней стадии установить начало воспаления эндометрия у коров. Уменьшение объема пробы слизи, наличие крови и мути приводят к появлению ложных или неявных результатов, повышению частоты ложноотрицательной оценки состояния животного.

Совокупность полученных результатов позволила оценить характеристики предложенного тест-способа (табл. 9). Реагент Z1 повышает надежность принятия решения благодаря

Таблица 8. Результаты тестирования тупферов с Z1, помещенных в образцы носовой слизи телят

Номер коровы	Код пробы теленка	Клинический диагноз (1–3 дня после рождения)	Аналитический отклик тест-систем	Клинический диагноз через 3 недели
1409	1т	Бронхопневмония	Норма (мало пробы)	Бронхопневмония
1417	2т	Здоров	Обесцвечивание	Респираторный синдром
7012	3т	Здоров	Обесцвечивание	Респираторный синдром
15119	4т	Респираторный синдром, ларинготрахеит	Обесцвечивание	Респираторный синдром, ларинготрахеит

Таблица 9. Характеристики предложенного тест-способа

Способ применения	Специфичность	Правильность	Прецизионность	Число ложноположительных результатов	Число ложноотрицательных результатов
В лунках	0.857	0.910	0.857	1 из 11	0
На тупфере	0.813	0.867	0.813	3 из 30	1 из 30
В растворе	0.667	0.833	0.750	1 из 6	0

возможности регистрации аналитического сигнала как при естественном, так и при искусственном (УФ) освещении тест-средств или проб после его введения. Реагент выбран в качестве приоритетного для дальнейших исследований и применения в качестве дополнительного модификатора квантовых точек сульфида кадмия. Ранее установлено, что квантовые точки существенно стабилизируют органические реагенты и способствуют увеличению времени их активной эксплуатации в аналитических системах. Эффективность применения реагента Z1 в качестве модификатора других сенсоров (не оптических) будет рассмотрена в нашей дальнейшей работе.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда 23-23-00609.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией руководящих принципов и одобрено Комитетом по этике Воронежского государственного университета инженерных технологий (Протокол № 7 от 30.11.2023 года).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной статьи заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Братчикова О.А., Чехонацкая М.Л., Яннаева Н.Е. Ультразвуковая диагностика послеродового эндометрита (обзор) // Саратовский научно-медицинский журнал. 2014. Т. 10. С. 65.
2. Нежданов А.Г., Шабунин С.В., Михалев В.И., Филин В.В., Скориков В.Н. Послеродовой метрит у молочных коров // Ветеринария. 2016. № 8. С. 4.
3. Полянцев Н.И., Магомедов А.Г., Афанасьев А.И. Йодметрагель при эндометрите у коров // Ветеринария. 2007. № 12. С. 36.
4. Sheldon I.M., Dobson H. Postpartum uterine health in cattle // Anim. Reprod. Sci. 2004. V. 82. P. 295.
5. LeBlanc S.I., Duffield T.F., Leslie K.E., Bateman K.G., Keefe G.P., Walton J.S., Johnson W.H. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis, and its impact on reproductive performance in dairy cows // J. Dairy Sci. 2002. V. 85. № 9. С. 2223.
6. Епанчинцева О.С. Симптоматическое бесплодие у коров в послеродовой период: диагностика, лечение и профилактика. Автореферат дис. ... д-р. ветеринар. наук. Краснодар: ФГБОУ ВПО “Кубанский государственный аграрный университет”, 2013. 39 с.
7. Халипаев М.Г., Азизов И.М., Зухрабова З.М. Этиопатогенез, диагностика и лечебно-профилактические мероприятия при послеродовом катарально-гнойном эндометрите коров // Уч. зап. Казан. гос. акад. вет. медицины им. Н. Э. Баумана. 2021. Т. 245. С. 204.
8. Дубинин А.В. Профилактика акушерско-гинекологических заболеваний коров с использованием композиционного средства “Био-ФАЯЛ”. Дис. ... д-р. ветеринар. наук. Санкт-Петербург: ФГБОУ ВПО “Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины”, 2020. 135 с.
9. Нежданов А.Г., Лободин К.А. Воспроизводство высокопродуктивного молочного скота: эффективность ветеринарного контроля // Молочная промышленность. 2015. № 11. С. 64.
10. Иванюк В.П., Мещеряков О.Ю., Бобкова Г.Н. Оценка комплексной терапии коров, больных хроническим эндометритом // Изв. Оренбург. гос. аграрного ун-та. 2023. № 1. С. 189.
11. Шабунин С.В., Шахов А.Г., Черницкий А.Е., Золотарев А.И., Рецкий М.И. Респираторные болезни телят: современный взгляд на проблему // Ветеринария. 2015. № 5. С. 3.
12. Нежданов А.Г., Шабунин С.В., Алехин Ю.Н., Рецкий М.И., Шахов А.Г., Михалев В.И., Климов Н.Т., Сафонов В.А., Ефанова Л.И., Шапошников И.Т., Брехов Т.П., Ерин Д.А., Зимников В.И., Чупрын С.П., Шишкина Е.В., Филин В.В., Модин А.Н., Внукова Н.Т., Першин С.С., Лободин К.А., Дюльгер Г.П., Сулейманов С.М. Методическое пособие (по профилактике бесплодия у высокопродуктивного молочного скота) / ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии. Воронеж, 2010. 54 с.
13. Новикова Е.Н. Этиология и патогенез неспецифического послеродового эндометрита и разработка системы его профилактики и терапии у коров. Дис. ... д-р. ветеринар. наук. Краснодар: ФГБОУ ВПО “Кубанский государственный аграрный университет”, 2021. 362 с.
14. Zhou W., Guo H., Lin J., Yang F. Multiple BODIPY derivatives with 1,3,5-triazine as core: balance between fluorescence and numbers of BODIPY units // J. Iran. Chem. Soc., 2018. V. 15. P. 2559.
15. Padalkar V.S., Patil V.S., Sekar N. Synthesis and characterization of novel 2,2-bipyrimidine fluorescent derivative for protein binding // Chem. Cent. J. 2011. V. 5. № 1. P. 72.
16. Irannejad H., Amini M., Khodaghali F., Ansari N., Tusi S.K., Sharifzadeh M., Shafiee A. Synthesis and in vitro evaluation of novel 1,2,4-triazine derivatives as neuroprotective agents // Bioorg. Med. Chem. 2010. V. 18. P. 4224.

17. Dmitruk S.L., Druzhinin S.I., Kovalenko M.F., Uzhinov B.M. Acid-base interaction of 2,3-dimethyl-6-phenylimidazo-[1,2-b]-1,2,4-triazine in the ground and excited states // *J. Photochem. Photobiol.* 1995. V. 88. P. 129.
18. SAMSUNG ELECTRONICS CO., LT D. Method for predicting efficacy of c-Met inhibitor (CN-104762371-B). SAMSUNG ELECTRONICS CO., LT D. 2019. P. 1.
19. CHINESE ACADEMY OF SCIENCES; Shanghai Institute of Materia Medica (in: CAS). Reversible fluorescent compound identified by targeted tyrosine kinase and preparation method and application thereof (CN-111848657-B) // *Chinese Academy of Sciences*. 2021. P. 1.
20. Helmholtz Association; BAYER AG. Imidazotriazines acting on cancer via inhibition of cdk12 (WO2021/176045A1). BAYER AG, 2021. P. 1.
21. Goya P., de la Oliva C.G. Triazines, tetrazines and fused ring polyaza systems // *Prog. Heterocycl. Chem.* 2007. V. 18. P. 353.
22. Rajagopal V., Narayanan N.J., Kathiresan M., Pattanayak D.K., Suryanarayanan V. Triazine interlinked covalent organic polymer as an efficient antibacterial agent // *Mater. Today Chem.* 2021. V. 19. P. 1.
23. Hu X., Guo Y., Wang T., Liu C., Yang Y., Fang G. A selectivity-enhanced ratiometric fluorescence imprinted sensor based on synergistic effect of covalent and non-covalent recognition units for ultrasensitive detection of ribavirin // *J. Hazard. Mater.* 2022. V. 421. P. 1.
24. Yu Y., Li G. Design of terbium (III)-functionalized covalent organic framework as a selective and sensitive turn-on fluorescent switch for ochratoxin A monitoring // *J. Hazard. Mater.* 2022. V. 422. Article 126927.
25. Li Y., Li J.-J., Zhang Q., Zhang J.-Y., Zhang N., Fang Y.-Z., Yan J., Ke Q. The multifunctional BODIPY@ Eu-MOF nanosheets as bioimaging platform: A ratiometric fluorescence sensor for highly efficient detection of F⁻, H₂O₂ and glucose // *Sens. Actuators B: Chem.* 2022. V. 354. Article 131140.
26. Vandyshev D.Yu., Shikhaliev Kh. S., Preznet M. A., Kozaderov O.A., Ovchinnikov O.V., Smirnov M.S., Ilyinova T.N., Mangusheva D.A., Iminova R.R., Chetti P. Analysis of the spectral-luminescence properties of imidazo[1,2-b]pyrido[4,3-e][1,2,4] triazin-6(7H)-ones // *Luminescence*. 2022. V. 37. P. 1689.
27. Peczká N., Orgovan Z., Abranyi-Balogh P., Keseru G.M. Electrophilic warheads in covalent drug discovery: An overview // *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2022. T. 17. № 4. С. 413–422.
28. Вандышев Д.Ю., Крутских А.С., Колтаков И.А., Потанов А.Ю., Антипов С.С., Шихалиев Х.С., Хмелевская Т.Н. Исследование физико-химических характеристик флуоресцентных зондов класса азолотриазинов для идентификации микроорганизмов / Материалы VII конгресса биофизиков России. Т. 1. Краснодар, 2023 (Vandyshev D.Yu., Krutskikh A.S., Koltakov I.A., Potapov A.Yu., Antipov S.S., Shikhaliev Kh. S., Khmelevskaya T.N. Study of physicochemical characteristics of fluorescent probes of azolotriazine class for identification of microorganisms / *Proc. of the VII Congress of Biophysicists of Russia*. V. 1. Krasnodar, 2023.)
29. Willmann J.K., Bruggen N., Dinkelborg M., Gabhir S.S. Molecular imaging in drug development // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2008. V. 7. № 7. P. 591.
30. Кучменко Т.А., Доровская Е.С., Босикова Я.Н., Сметанкина А.В., Битюкова В.В. Применение электронного носа на основе пьезоэлектрических сенсоров для сканирования летучих соединений гинекологических тестов // *Журнал аналитической химии*. 2021. Т. 76. С. 868 – 880. (Kuchmenko T.A., Dorovskaya E.S., Bosikova Y.N., Smetankina A.V., Bityukova V.V. Application of an electronic nose based on piezoelectric sensors for scanning volatile compounds of gynecological tests // *J. Anal. Chem.* 2021. V. 76. P. 868.)
31. Кучменко Т.А., Умарханов Р.У., Менжулина Д.А. Биогидроксипатит – новая фаза для селективного микровзвешивания паров органических соединений – маркеров воспаления в носовой слизи телят и человека. Сообщение 1. Сорбция в модельных системах // *Сорбционные и хроматографические процессы* 2021. Т. 21. № 2. С. 142.
32. Кучменко Т.А., Умарханов Р.У., Менжулина Д.А. Биогидроксипатит – новая фаза для селективного микровакуумного взвешивания маркеров воспаления в носовой слизи телят и человека. Сообщение 2: Анализы в реальных условиях // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2021. Т. 21. № 2. С. 216.
33. Kuchmenko T., Shuba A., Umarmkhanov R., Chernitskiy A. Portable electronic nose for analyzing the smell of nasal secretions in calves: toward noninvasive diagnosis of infectious bronchopneumonia // *Vet. Sci.* 2021. V. 8. № 5. P. 74.
34. Скориков В.Н., Кучменко Т.А., Михалев В.И., Умарханов Р.У., Сашина Л.Ю., Чусова Г.Г. Применение прибора “электронный нос” для диагностики хронических заболеваний матки у молочных коров // *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии*. 2020. № 3. С. 107.
35. Кучменко Т.А., Шуба А.А., Умарханов Р.У., Дроздова Е.В., Черницкий А.Е. Применение пьезоэлектрического носа для оценки состояния дыхательной системы телят по летучим соединениям // *Журн. аналит. химии*. 2020. Т. 75. № 5. С. 645. (Kuchmenko T.A., Shuba A.A., Umarmkhanov R.U., Drozdova E.V., Chernitskii A.E. Application of a piezoelectric nose to assessing the

- respiratory system in calves by volatile compounds // J. Anal. Chem. 2020. V. 75. P. 645.)
36. Шабунин С.В., Кучменко Т.А., Скоригов В.Н., Нежданов А.Г., Михалев В.И., Умарханов Р.У. Инновационные методы доклинической диагностики послеродового метрита у коров с применением прибора “Электронный нос” // Вестник Российской сельскохозяйственной науки. 2020. № 2. С. 48.
 37. Кучменко Т.А., Доровская Е.С., Менжулина Д.А., Чубаров Т.В., Мураховский И.А. Оценка возможности использования “электронного носа” для мониторинга нарушений при функциональном ожирении у детей в условиях стационара. наблюдения за изменениями состояния в процессе лечения // Журн. аналит. химии. 2023. Т. 78. С. 274. (Kuchmenko T.A., Dorovskaya E.S., Menzhulina D.A., Chubarov T.V., Murakhovsky I.A. Evaluation of the possibility of using the “electronic nose” for monitoring abnormalities in functional obesity of children in hospital conditions. observations of changes in condition during treatment // J. Anal. Chem. 2023. V. 78. P. 274.)
 38. Kuchmenko T.A., Dorovskaya E.S., Umarkhanov R.U., Krylov V.V., Smetankina, A. V., Menzhulina D.A., Bityukova V.V. Portable electronic nose system for fast gynecological-conditions diagnosis in consulting room: a case study // Sens. Actuators B: Chem. 2022. V. 358. Article 131538.
 39. Кучменко Т.А., Менжулина Д.А., Мураховский И.А. Обоснование возможности использования высокочувствительных пьезосенсоров в открытой системе для получения диагностической информации о летучих веществах кожи // Журн. аналит. химии. 2023. Т. 78. С. 711. (Kuchmenko T.A., Menzhulina D.A., Murakhovsky I.A. Justification of the possibility of using highly sensitive piezosensors in an open system for obtaining diagnostic information about volatile substances of the skin // J. Anal. Chem. 2023. V. 78. P. 711.)
 40. Kuchmenko T.A., Shuba A.A., Umarkhanov R.U., Lvova L.V. The new approach to a pattern recognition of volatile compounds: the inflammation markers in nasal mucus swabs from calves using the gas sensor array // Chemosensors. 2021. № 9. P. 116.
 41. Михайлов Н.Н., Лучко М.А., Коннова З.С. Получение образцов цервикальной слизи у коров. Москва: Ветеринария, 1967. 80 с.
 42. Скоригов В.Н., Кучменко Т.А., Михалев В.И., Харланова А.Г., Шихалиев Х.С., Вандышев Д.Ю. Способ экспрессной диагностики послеродового метрита у молочных коров в режиме реального времени. Патент РФ № 2802522. Заявка RU2022118672A от 06.07.2022, опублик. 30.08.2023.
 43. de Lacy Costello B., Amann A., Al-Kateb H., Flynn C., Filipiak W., Khalid T., Osborne D., Ratcliffe N.M. A review of the volatiles from the healthy human body // J. Breath Res. 2014. V. 8. № 1. Article 014001.
 44. Longo V., Forleo A., Provenzano S.P., Coppola L., Zara V., Ferramosca A., Siciliano R., Capone S. HS-SPME-GC-MS metabolomics approach for sperm quality evaluation by semen volatile organic compounds (VOCs) analysis // Biomed. Phys. Eng. Express. 2019. V. 5. № 1. Article 015006.
 45. Boots A.W., van Berkel J.J. B.N., Dallinga J.W., Smolinska A., Wouters E.F., van Schooten F.J. The versatile use of exhaled volatile organic compounds in human health and disease // J. Breath Res. 2012. V. 6. № 2. Article 027108.
 46. Capone S., Tufariello M., Forleo A., Longo V., Giampetruzzi L., Radogna, A. V., Casino F., Siciliano P. Chromatographic analysis of VOC patterns in exhaled breath from smokers and nonsmokers // Biomed. Chromatogr: BM C. 2018. V. 32. № 1-2. P. e4132.
 47. Markar S.R., Wiggins T., Kumar S., Hanna G.B. Exhaled breath analysis for the diagnosis and assessment of endoluminal gastrointestinal diseases // J. Clin. Gastroenterol. 2015. V. 49. № 1. P. 1.
 48. Markar S.R., Brodie B., Chin S.T., Romano A., Spalding D., Hanna G.B. Profile of exhaled-breath volatile organic compounds to diagnose pancreatic cancer // Br. J. Surg. 2018. V. 105. № 11. P. 1493.
 49. Lemfack M.C., Gohlke B.O., Toguem S.M. T., Preissner S., Piechulla B., Preissner R. mVOC 2.0: A database of microbial volatiles // Nucleic Acids Res. 2017. V. 46. № D1. P. D1261.
 50. Lemfack M.C., Nickel J., Dunkel M., Preissner R., Piechulla B. mVOC: A database of microbial volatiles // Nucleic Acids Res. 2014. V. 42. № D1. P. D744.
 51. Finamore P., Scarlata S., Incalzi R.A. Breath analysis in respiratory diseases: State-of-the-art and future perspectives // Expert Rev. Mol. Diagn. 2019. V. 19. № 1. P. 47.
 52. Lang A.L., Beier J.I. Interaction of volatile organic compounds and underlying liver disease: A new paradigm for risk // Biol. Chem. 2018. V. 399. № 11. P. 1237.
 53. Zhou J., Huang Z.-A., Kumar U., Chen D.D. Y. Review of recent developments in determining volatile organic compounds in exhaled breath as biomarkers for lung cancer diagnosis // Anal. Chim. Acta. 2017. V. 996. P. 1.
 54. Das S., Pal S., Mitra M. Significance of exhaled breath test in clinical diagnosis: A special focus on the detection of diabetes mellitus // J. Med. Biol. Eng. 2016. V. 36. P. 605.
 55. Fink T., Wolf A., Maurer F., Albrecht F.W., Heim N., Wolf B., Hauschild A.C., Bodeker B., Baumbach J.I., Volk T., Sessler D.I., Kreuer S. Volatile organic compounds during inflammation and sepsis in rats: A potential breath test using ion-mobility spectrometry // Anesthesiology. 2015. V. 122. № 1. P. 117.
 56. Filipiak W., Mochalski P., Filipiak A., Ager C., Cumeras R., Davis C.E., Agapiou A., Unterkofler K., Troppmair J.A. compendium of volatile organic

- compounds (VOCs) released by human cell lines // *Curr. Med. Chem.* 2016. V. 23. № 20. P. 2112.
57. Filipiak W., Sponring A., Filipiak A., Ager C., Schubert J., Miekisch, W., Amann A., Troppmair J. TD-GC-MS analysis of volatile metabolites of human lung cancer and normal cells in vitro // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2010. T. 19. № 1. P. 182.
58. Сайк О.В., Мошкин М.П., Балдин М.Н., Грузнов В.М., Козлов В.А., Самороков С.Н., Деменков П.С., Иванисенко В.А., Колчанов Н.А. PROMEDIA — база данных химических соединений, потенциальных биомаркеров заболеваний, актуальных для неинвазивной диагностики // *Математическая биология и биоинформатика.* 2011. Т. 6. № 2. С. 250. (Saik O.V., Moshkin M.P., Baldin M.N., Gruznov V.M., Kozlov V.A., Samorokov S.N., Demenkov P.S., Ivanisenko V.A., Kolchanov N.A. PROMEDIA — Database of chemical compounds, potential biomarkers of diseases relevant for non-invasive diagnostics // *Math. Biol. Bioinform.* 2011. V. 6. № 2. P. 250.)
59. Piechulla B., Degenhardt J. The emerging importance of microbial volatile organic compounds // *Plant Cell Environ.* 2014. V. 37. № 4. P. 811.
60. Plyuta V., Lipasova V., Popova A., Koksharova O., Kuznetsov A., Szegedi E., Chernin L., Khmel I. Influence of volatile organic compounds emitted by *Pseudomonas* and *Serratia* strains on *Agrobacterium tumefaciens* biofilms // *APMI S.* 2016. V. 124. № 7. С. 586.
61. Крылов В.П., Пашкин А.В., Сеченев В.В. Система управления здоровьем новорожденных телят // *Ветеринарная патология.* 2006. № 1. С. 31.
62. Ерина Т.А. Микробиоценоз кишечника и иммунный статус новорожденных телят с разным морфофункциональным развитием и их коррекция. Дис. ... канд. вет. наук. Воронеж: Курская государственная сельскохозяйственная академия имени профессора И.И. Иванова, 2015. 149 с.

FLUORESCENT AZOLOTRIAZINES-BASED TEST SYSTEMS BASED FOR THE DIAGNOSIS OF ENDOMETRITIS IN COWS ON SITE CONDITIONS

T. A. Kuchmenko^{a, b, *}, D. Y. Vandyshev^c, V. N. Skorikov^d, R. U. Umarmkhanov^a,
H. S. Shikhaliev^c, P. V. Seredin^c, V. V. Yagov^b, V. I. Mikhalev^d

^aVoronezhsky State University of Engineering Technologies
394036 Russia, Voronezh, ave . Revolution, 19

^bVernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry of the Russian Academy of Sciences
19 Kosygina str., Moscow, 119334, Russia

^c Voronezh State University
394018 Russia, Voronezh, Universitetskaya pl., 1

^dRussian Scientific Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy
144b Lomonosova str., Voronezh, 394087 Russia

*E-mail: tak1907@mail.ru

Abstract. The results of an experiment on testing the possibility of using solutions of 6-oxo-2-phenylimidazo[1,2-b]pyrido[4,3-e][1,2,4]triazine-7(6H)-yl)acetic acid on tablets and cellulose carriers to register the excessive, relatively biologically normal, content of volatile organic compounds that accompany inflammation of the endometrium have been considered. The fluorescent properties of the dye were studied using gynecological mucus of cows taken at different periods (before and after parturition) and nasal mucus of newborn calves. The response of the test systems was compared with clinically established diagnoses of cows and the results of microbiological studies. False-positive (no more than 11%) and false-negative (2%) responses, other characteristics (specificity, correctness, precision) of test systems based on 6-oxo-2-phenylimidazo[1,2-b]pyrido[4,3-e][1,2,4]triazine-7(6H)yl) acetic acid were evaluated. The possibility of using this fluorophore for the express diagnosis of endometritis inflammation in cows in the “on-site” mode is considered.

Keywords: “on site”, test systems, organic fluorophores, inflammation, mucus analysis, endometritis, cows

УДК 543.51

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ И ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ОСНОВНЫХ ФОНОВЫХ ОДНОЗАРЯДНЫХ АРГИДНЫХ ИОНОВ ArM^+ В МЕТОДЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ

© 2024 г. А. А. Пупышев^{a,*}, П. В. Зайцева^{a,b}, М. Ю. Бурылин^c, А.Г. Абакумов^c, П.Г. Абакумов^c

^aУральский федеральный университет

ул. Мира, 19, Екатеринбург, 620066 Россия

^bИнститут металлургии Уральского отделения Российской академии наук

ул. Амундсена, 101, Екатеринбург, 620016 Россия

^cКубанский государственный университет

ул. Ставропольская, 149, Краснодар, 350040 Россия

*E-mail: pupyshev@gmail.com

Поступила в редакцию 15.10.2023 г.

После доработки 08.11.2023 г.

Принята к публикации 10.11.2023 г.

Однозарядные фоновые аргидные ионы ArH^+ , ArN^+ , ArO^+ и Ar_2^+ создают очень сильные спектральные помехи при элементном и изотопном анализе методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП). В работе экспериментально исследовано поведение данных основных фоновых аргидных ионов в условиях МС-ИСП в зависимости от высокочастотной мощности плазмы и скорости транспортирующего потока аргона. Теоретически методом термодинамического моделирования изучено поведение указанных аргидных ионов при варьировании температуры плазмы и скорости транспортирующего потока аргона. Отмечены общие закономерности изменения интенсивности основных фоновых аргидных ионов и эффективности их образования при варьировании операционных параметров индуктивно связанной плазмы. Достигнуто хорошее совпадение полученных экспериментальных и теоретических зависимостей.

Ключевые слова: масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, основные фоновые аргидные ионы, операционные параметры прибора, температура индуктивно связанной плазмы, эффективность образования аргидных ионов, дискриминация ионов по массе.

DOI: 10.31857/S0044450224090046, EDN: tiyect

В масс-спектре аргоновой индуктивно связанной плазмы всегда присутствуют однозарядные аргидные ионы ArM^+ , которые могут быть образованы всеми элементами М Периодической системы. Аргидные ионы ArH^+ , ArC^+ , ArN^+ , ArO^+ и Ar_2^+ (ArAr^+), характерные для элементов М, входящих в состав воды, воздуха и рабочего газа плазмы, обязательно проявляются при анализе растворов методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП). Данные фоновые ионы имеют очень высокую интенсивность в масс-спектрах индуктивно связанной плазмы (ИСП) и создают серьезные спектральные помехи определению ряда легких элементов

при соотношении массы к заряду иона $m/z > 36$ (изотоп аргона с низшей атомной массой). Это обусловлено достаточно высокими, по сравнению с металлоаргидными ионами, значениями энергии связи атомов в таких ионах [1] и большими концентрациями фоновых элементов М в плазме разряда. Данную группу ионов принято обычно называть основными фоновыми однозарядными аргидными ионами. Кроме того, в масс-спектре ИСП могут одновременно наблюдаться дважды заряженные двухатомные аргидные ионы ArM^{2+} [1], которые мы, из-за ограниченности к настоящему времени экспериментальной и теоретической информации по таким ионам, пока не рассматриваем.

Любые полиатомные ионы образуются и наблюдаются в масс-спектрах при всех изотопных сочетаниях составляющих элементов в полном соответствии с естественной распространенностью изотопов [2]. Особенностью фоновых элементов H, C, N, O и Ag является то, что в их естественном изотопном составе присутствует основной изотоп, распространенность которого выше по крайней мере на два порядка и более, чем остальных изотопов данных элементов. Поэтому самые сильные спектральные помехи фоновых аргидных ионов в методе МС-ИСП проявляются в том случае, когда они образованы наиболее распространенными изотопами составляющих элементов. Поскольку эффективность образования полиатомных ионов определяется произведением естественных распространенностей составляющих частицу изотопов, то уровень спектральных помех фоновых аргидных ионов, образованных менее распространенными изотопами их элементов, резко снижается. Тем не менее при проведении высокочувствительных и высокоточных (особенно при изотопном анализе) аналитических работ методом МС-ИСП нужно проверять и при необходимости устранять или учитывать возможность проявления в масс-спектре фоновых аргидных ионов, образованных составляющими изотопами с низкой естественной распространенностью.

К фоновым однозарядным аргидным ионам AgM^+ также относят ионы, образованные неметаллами M, входящими в состав наиболее распространенных кислот, используемых для подготовки проб в методе МС-ИСП: в первую очередь — N, F, S и Cl. Эти полиатомные ионы также имеют высокие значения энергии связи внутри частицы [1], но проявляются в масс-спектре с гораздо меньшей интенсивностью, чем основные фоновые аргидные ионы из-за более низкой концентрации неметаллов в плазме разряда. Данные фоновые аргидные ионы неметаллов равным образом создают сильные спектральные помехи в МС-ИСП.

Возможные проявления и уровень спектральных помех (эффективность образования) фоновых и металлоаргидных ионов AgM^+ в МС-ИСП, влияние приборных и операционных параметров на их интенсивность, основные пути учета, снижения и устранения данных спектральных помех подробно обсуждены в обзоре [1]. На основе рассмотренных в статье [1] экспериментальных работ показано, что в условиях нормальной (“горячей”) ИСП для ионов AgH^+ , AgO^+ и Ar_2^+ с ростом скорости транспортирующего потока аргона происходит увеличение или снижение интенсивности данных ионов, а также прохождение ее через максимум. Показано, что интенсивность фоновых

аргидных ионов AgN^+ и AgH^+ в масс-спектре ИСП резко снижается в условиях низкотемпературной (“холодной”) плазмы. Эффективность образования фоновых основных аргидных ионов, оцениваемая по соотношению интенсивностей массовых пиков $I(\text{AgM}^+)/I(\text{M}^+)$, обычно существенно превосходит эффективность образования металлоаргидных ионов.

В обзоре [1] отмечено, что весьма полезным для решения задач элементного и изотопного анализа методом МС-ИСП является дальнейшее экспериментальное изучение поведения аргидных ионов в зависимости от операционных параметров плазмы, а также теоретическое изучение этого вопроса с использованием метода термодинамического моделирования, существенно расширяющего возможности исследований. Решению этих вопросов для основных фоновых аргидных однозарядных ионов AgH^+ , AgN^+ , AgO^+ , Ar_2^+ (ArAr^+) посвящен материал данной статьи. Теоретическое изучение образования в условиях ИСП аргидных ионов AgM^+ углерода, серы, фтора и хлора пока невозможно из-за отсутствия в базах данных программных комплексов термодинамического моделирования необходимых комплексов термодинамических свойств данных ионов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПОВЕДЕНИЯ ОСНОВНЫХ ФОНОВЫХ АРГИДНЫХ ИОНОВ ARM^+ В УСЛОВИЯХ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ

Оборудование и условия измерений. Эксперименты выполняли с применением квадрупольного прибора МС-ИСП iCAP RQ (Thermo Fisher Scientific, США) в режиме STD без применения ячейки столкновений. В качестве рабочего газа использовали аргон высокой чистоты (99.998%). Ввод фоновых и калибровочных (для учета дискриминации ионов по массе) растворов проб (0.3 мл/мин) осуществляли концентрическим распылителем MicroMist. Частичную десольватацию аэрозоля проводили в кварцевой циклонной распылительной камере с Пельтье-охлаждением (2.8°C). Интерфейс прибора состоял из сэмплера (Ni) с диаметром отверстия 1.1 мм, скиммера (Ni/Cu, 0.5 мм) и стандартной 3.5 мм скиммерной вставки (high matrix insert). Операционные параметры прибора приведены в табл. 1. Глубина пробоотбора плазмы во всех случаях была одинакова — 5 мм. Измерения осуществляли в режимах обзорного сканирования и “прыжков по пикам” при варьировании высокочастотной мощности плазмы и скорости транспортирующего потока аргона.

Материалы и реактивы. Все измерения для основных фоновых аргидных ионов выполняли на растворах, содержащих 1 мас.% HNO_3 (PanReac AppliChem, США) в деионизованной воде с максимальным удельным сопротивлением 18.2 МΩ/см, полученной на установке для субдистилляции DuoPUR Subboiling Distilling System (Milestone, Италия).

Проведение эксперимента и результаты. Экспериментально поведение основных фоновых аргидных ионов изучали в условиях варьирования высокочастотной мощности индуктивно связанной плазмы W и скорости транспортирующего потока аргона V_{Ar} (табл. 1). Глубина пробоотбора плазмы во всех случаях была одинакова.

Измеренные интенсивности сигналов M^+ и ArM^+ корректировали с учетом возможных спектральных помех и эффекта дискриминации ионов по массе [3] прибором МС-ИСП. Калибровочные кривые дискриминации ионов по массе в области до 115 а.е.м. получали по пяти элементам с учетом рекомендаций [4] и аппроксимировали прямой линией для каждого сочетания высокочастотной мощности и транспортирующего потока аргона, изменяющих кинетическую энергию ионов в плазменном потоке. Здесь необходимо отметить, что поправка на эффект дискриминации ионов по массе для водорода $^1\text{H}^+$ была максимально отягощена погрешностями измерения интенсивности его изотопа и, особенно, положением аппроксимирующей прямой калибровки чувствительности измерений в области самого малого значения $m/z = 1$. Это не позволило нам при обработке экспериментальных результатов получить однозначные температурные зависимости для отношения $I(\text{ArH}^+)/I(\text{H}^+)$, где $I(\text{X}^+)$ – экспериментальная интенсивность пика иона X^+ , скорректированная на эффект дискриминации ионов по массе.

На рис. 1 приведены экспериментальные интенсивности основных фоновых ионов ИСП $^1\text{H}^+$, $^{14}\text{N}^+$, $^{16}\text{O}^+$, $^{40}\text{Ar}^+$ и их аргидных ионов $^{40}\text{Ar}^1\text{H}^+$, $^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}^+$, $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$, $^{40}\text{Ar}_2^+$ в зависимости от скорости транспортирующего потока аргона V_{Ar} и вкладываемой в разряд высокочастотной мощности W . При учете дискриминации ионов по массе интенсивности всех рассматриваемых ионов, кроме $^1\text{H}^+$, нормировали на интенсивность $m/z = 80$ (Ar_2^+) (корректировка чувствительности измерений ионов с различными m/z).

Зависимости для $I(^1\text{H}^+)$ на рис. 1 в силу указанной выше причины представлены без учета коррекции интенсивности ионов $^1\text{H}^+$ на эффект дискриминации ионов по массе. Тем не менее здесь необходимо отметить, что общий ход зависимостей для $^1\text{H}^+$ от варьируемых

операционных параметров на данном рисунке практически не отличается от хода зависимостей для других ионов, но имеется большое различие в значениях интенсивности ионного пика.

Из рис. 1 видно, что экспериментальная интенсивность основных фоновых элементарных M^+ и аргидных ионов ArM^+ при малых транспортирующих потоках аргона до 0.7–0.9 л/мин практически одинакова для всех значений вкладываемой в разряд высокочастотной мощности и в общем случае повышается с увеличением скорости транспортирующего потока аргона. Затем интенсивность ионов достигает максимума при определенных значениях V_{Ar} , а далее резко снижается. Это соответствует снижению температуры ИСП с увеличением скорости транспортирующего потока аргона. Степень ослабления интенсивности фоновых ионов в случае высоких значений V_{Ar} возрастает при уменьшении вкладываемой в разряд высокочастотной мощности. Максимальная интенсивность фоновых пиков аргидных ионов повышается с ростом вкладываемой в разряд высокочастотной мощности, что соответствует возрастанию температуры ИСП. Общий ход зависимостей свидетельствуют о прямом и сильном влиянии температуры ИСП, а также ее аксиального распределения вдоль факела плазмы на интенсивность пиков фоновых ионов.

По скорректированным с учетом дискриминации ионов по массам интенсивностям рассчитали численные отношения интенсивностей массовых пиков $I(\text{ArM}^+)/I(\text{M}^+)$ и, для удобства представления результатов [1], полученные значения пересчитали в ppm (реальное численное значение отношения сигналов ArM^+/M^+ , умноженное на 10^6). На рис. 2 приведены зависимости эффективности образования основных фоновых аргидных ионов $I(\text{ArM}^+)/I(\text{M}^+)$ для ArN^+ , ArO^+ и Ar_2^+ от скорости транспортирующего потока аргона и вкладываемой в разряд высокочастотной мощности. Хорошо видно, что значения $I(\text{ArM}^+)/I(\text{M}^+)$ возрастают с уменьшением вкладываемой в разряд высокочастотной мощности и ростом скорости транспортирующего потока аргона, т.е. с понижением температуры ИСП. Полученные нами диапазоны экспериментальных значений эффективности образования фоновых основных аргидных ионов $I(\text{ArM}^+)/I(\text{M}^+)$ достаточно хорошо согласуются с опубликованными данными (табл. 2) и коррелируют с энергиями диссоциации соответствующих аргидных ионов [1]. Наблюдаемое поведение основных фоновых аргидных ионов (рис. 2) в зависимости от операционных условий анализа соответствует общим экспериментальным закономерностям, установленным в работе [1].

Таблица 1. Используемые в эксперименте операционные параметры прибора iCAP RQ

Параметр	Значение
Скорость транспортирующего потока аргона, V_{Ar}	Варьирование от 0.5 до 1.1 л/мин
Скорость вспомогательного потока аргона	0.80 л/мин
Скорость охлаждающего потока аргона	14 л/мин
Мощность высокочастотного генератора, W	Варьирование от 800 до 1400 Вт
Разрешение	0.8 а.е.м.
Режим работы детектора при измерении M^+ и ArM^+	Счетный и аналоговый

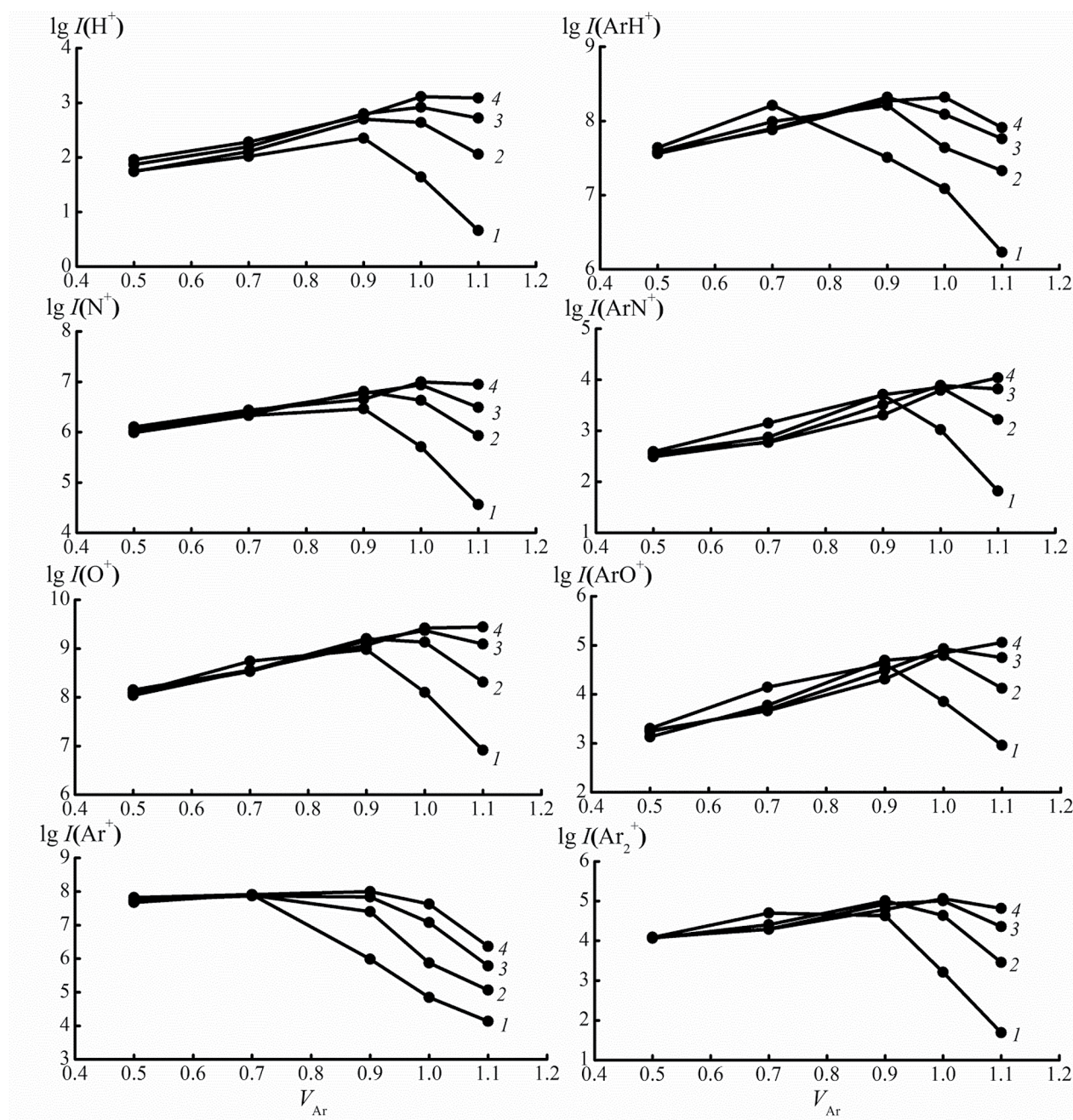


Рис. 1. Экспериментальное изменение логарифмов интенсивности $I(X^+)$ (имп/с) основных фоновых ионов ИСП (скорректированные, кроме H^+ , на эффект дискриминации ионов по массе) в зависимости от скорости транспортирующего потока аргона V_{Ar} (л/мин) и высокочастотной мощности плазмы W , Вт: 1 – 800, 2 – 1000, 3 – 1200, 4 – 1400.

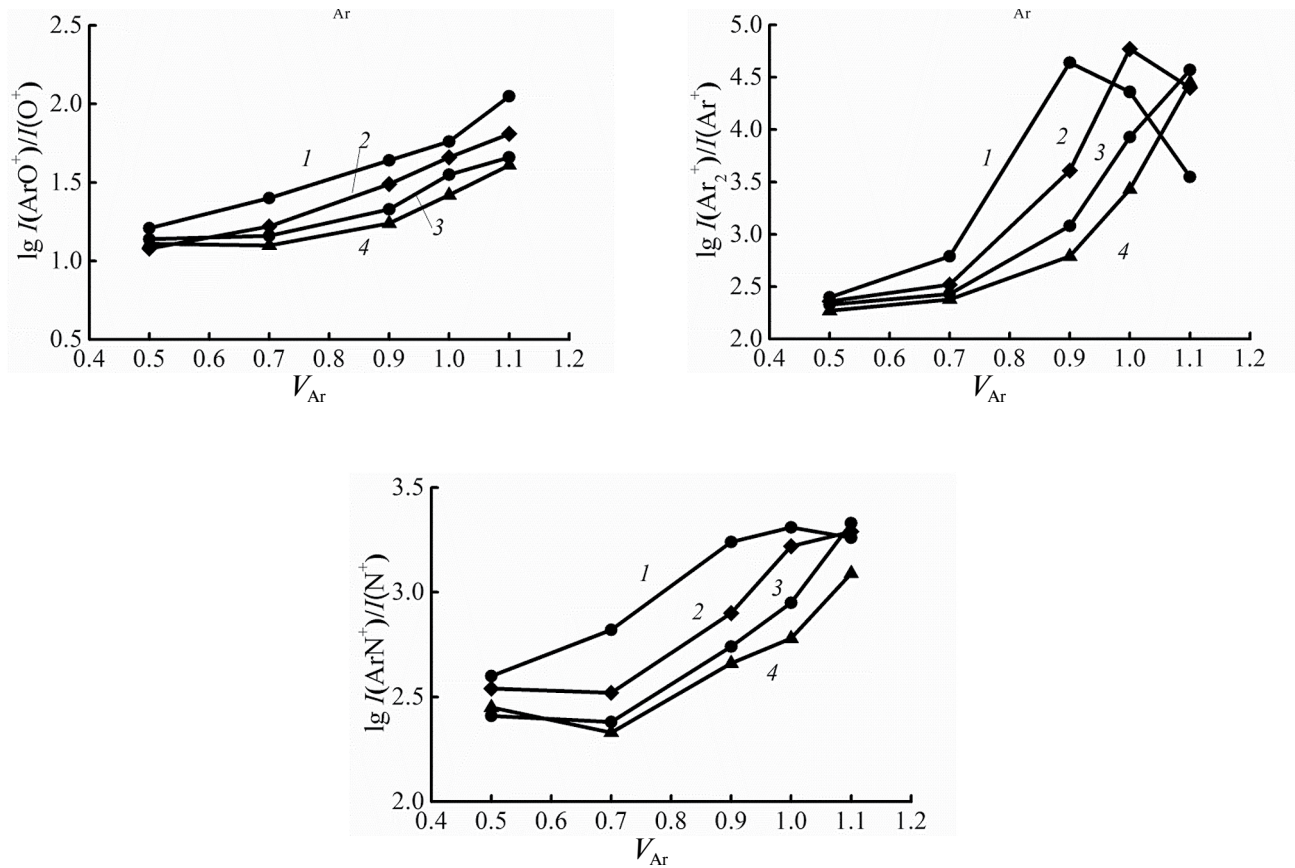


Рис. 2. Экспериментальное изменение логарифмов эффективности образования основных фоновых аргидных ионов ИСП $I(\text{ArM}^+)/I(\text{M}^+)$ в зависимости от скорости транспортирующего потока аргона V_{Ar} (л/мин) и высокочастотной мощности плазмы, Вт: 1 – 800, 2 – 1000, 3 – 1200, 4 – 1400.

Таблица 2. Диапазоны опубликованных значений энергии диссоциации основных фоновых аргидных ионов $D(\text{ArM}^+)$, значения экспериментальных отношений ArM^+/M^+ , приведенные в работах [5–7] (без учета дискриминации ионов по массе), а также полученные в наших эксперименте и расчете

Аргидный ион ArM^+	$D(\text{ArM}^+)$, эВ [1]	ArM^+/M^+ , ppm		
		опубликованные значения	наш эксперимент	наш расчет
ArH^+	2.48–6.16	1000–3000 [5], 4.4×10^6 [6],	6.3×10^4 – 1.6×10^6 (оценка)	3.1×10^3 – 2.5×10^4
ArC^+	0.424–0.935	10–100 [5], 1000–5000 [7]	*	*
ArN^+	1.21–2.29	6.9 и 35 [6], 100–1000 [5]	2000–1000	250–1000
ArO^+	0.312–0.68	25 и 1110 [6], 1000–3000 [5]	12.6–112	100–158
ArF^+	0.693–3.03	1000–3000 [5]	*	*
ArS^+	3.87	10–100 [5]	*	*
ArCl^+	1.75–2.2	10–1000 [5], 100–1000 [7]	*	*
Ar_2^+	0.068–1.85	3000 [6]	200– 4.0×10^4	63–200

*Измерение и расчет в данной работе не проводили.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПОВЕДЕНИЯ ОСНОВНЫХ ФОНОВЫХ АРГИДНЫХ ИОНОВ ARM+ В УСЛОВИЯХ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ

Равновесное термодинамическое моделирование.

Метод равновесного термодинамического моделирования позволяет изучать высокотемпературные термохимические процессы на основе анализа расчетов полного равновесного состава рассматриваемых термодинамических систем с учетом присутствия большинства возможных в равновесии индивидуальных веществ (для низкотемпературной плазмы — атомов, радикалов, молекул, атомных и молекулярных ионов, в том числе и аргидных) [8]). Для проведения расчетов необходимо иметь соответствующий программный комплекс, обширную базу термодинамических свойств индивидуальных веществ, сведения об исходном химическом составе системы, возможные значения температуры и давления в системе, а также надежный алгоритм расчетов, позволяющий применять равновесное моделирование к неравновесному спектральному источнику [2].

В данной работе расчеты равновесного состава ИСП выполняли с помощью программного комплекса TERRA [9, 10], базирующегося на принципе максимизации энтропии термодинамической системы и использующего обширный банк термодинамических взаимосогласованных данных ИВТАНТЕРМО [11]. Для проведения наших расчетов в этот банк дополнительно были введены комплекты термодинамических свойств следующих индивидуальных веществ, информация о которых опубликована недавно: ArO и ArO^+ [12], Ar_2 и Ar_2^+ [13], ArN и ArN^+ [14], ArH и ArH^+ [15]. Полный набор индивидуальных веществ, учитываемых в выполненных расчетах равновесного состава плазмы, приведен в табл. 3.

Таблица 3. Учитываемые в расчетах равновесия в индуктивно связанной плазме индивидуальные газообразные вещества

Нейтральные	Заряженные
Ar, Ar_2 , ArH, ArN, ArO	Ar^+ , Ar_2^+ , Ar^{++} , ArH^+ , ArN^+ , ArO^+
	e^-
H, H_2	H^+ , H^- , H_2^+ , H_3^+
N, N_2 , N_3 , NH, NH_2 , NH_3 , N_2H_2 , N_2H_4 , HN_3 , NO, NO_2 , N_2O , N_2O_3 , N_2O_4 , N_2O_5 , HNO, HNO_2 , HNO_3 , NH_3O , $\text{N}_2\text{H}_2\text{O}_2$	N^+ , N_2^+ , NH^+ , NO^+ , NO_2^+ , NO_2^- , NO_3^-
O, O_2 , O_3 , OH, HO_2 , H_2O , H_2O_2	O^+ , O^- , O_2^+ , O_2^- , OH^+ , OH^- , H_2O^+ , HO_2^- , H_3O^+

Наши расчеты базируются на равновесной термодинамической модели термохимических процессов в МС-ИСП, обобщенной в работе [2] по серии предшествующих публикаций. Основным доказанным положением модели является то, что состав плазмы, попадающей в отверстие сэмплера прибора, формируется только транспортирующим потоком аргона с аэрозолем пробы. Модель обеспечивает возможность вычисления при различной температуре полного равновесного химического состава плазмы, входящей в интерфейс МС-ИСП. Модель учитывает различия в исходном качественном и количественном составе термодинамических систем, реализуемых в ИСП: любые типы и расходы транспортирующего газа, растворителя, матричных, определяемых и сопутствующих элементов анализируемых образцов.

Таким образом, используя данную модель и указанные выше расчетные средства, можно получать информацию при каждой из заданных температур о полном равновесном составе ИСП, включая основные фоновые положительные ионы (H^+ , H_2^+ , H_3^+ , N^+ , NH^+ , O^+ , OH^+ , H_2O^+ , H_3O^+ , Ar^{++} , N_2^+ , NO^+ , O_2^+ , Ar^+ , ArH^+ , NO_2^+ , ArN^+ , ArO^+ и Ar_2^+), находящиеся в равновесии с остальными компонентами плазмы. Это дает возможность рассчитать значения концентраций данных ионов и эффективности образования ArM^+/M^+ однозарядных аргидных ионов водорода, азота, кислорода и аргона в условиях варьирования температурного и химического состава плазмы. Затем, учитывая, что регистрируемый в масс-спектрометре ионный ток любого типа ионов, несущих элементарный заряд, пропорционален количеству его частиц, попавших после масс-анализатора на фотоэлектрический приемник, можно проводить прямое сопоставление экспериментальной скорости счета ионных импульсов (имп/с) с расчетными концентрациями ионов в плазме разряда (см^{-3}).

В исходный состав расчетных динамических термодинамических систем, численно равный массовым потокам веществ [9], поступающих в плазменную горелку прибора МС-ИСП, вводили транспортирующий поток аргона V_{Ar} (1.0, 0.62 и 0.22 л/мин — в практике обычно используется диапазон V_{Ar} от 1.1 до 0.4 л/мин) и водного аэрозоля раствора (1 мл/мин), содержащего 1 мас.% HNO_3 . Эффективность распылительной аэрозольной системы в расчетах приняли равной 2%. Указанный выше исходный состав расчетных термодинамических систем, пересчитанный в массовые доли компонентов в термодинамической системе (условие ввода исходного состава в программу TERRA [9]), приведен в табл. 4.

Таблица 4. Исходный состав расчетных термодинамических систем

Исходный компонент	Массовая доля в системе
Ar	0.4, 1.1, 1.78
H ₂ O	0.02 (с учетом эффективности распылительной системы)
HNO ₃	1×10^{-4} (с учетом эффективности распылительной системы)

Проведение расчетов и результаты. Расчеты равновесного состава основных фоновых нейтральных частиц и ионов ИСП выполняли в полном соответствии с условиями, изложенными в табл. 3 и 4. Расчеты проводили при давлении 0.1 МПа (плазма генерируется при атмосферном давлении) в диапазоне температур от 3500 до 9000 К с шагом 500 К, что охватывает температурный диапазон низкотемпературной (“холодной”) и нормальной (“горячей”) ИСП. По результатам расчетов получили зависимости равновесных концентраций всех индивидуальных нейтральных и ионизированных веществ (см⁻³, т.е. число частиц в единице объема), учитываемых в расчетах (табл. 3), и уровни содержания (эффективность образования) основных фоновых аргидных ионов ArM^+/M^+ от температуры плазмы и транспортирующего потока аргона. Это позволяет проводить прямое сопоставление расчетных концентрационных данных для ионов с экспериментально измеренной интенсивностью соответствующих ионных пиков, поскольку она соответствует суммарному числу индивидуально зарегистрированных детектором единичных зарядов от каждого иона.

На рис. 3 и 4 приведено расчетное изменение логарифмов концентрации (см⁻³) нейтральных частиц $n(\text{X})$ и их фоновых ионов $n(\text{X}^+)$, включая аргонсодержащие, в ИСП в зависимости от температуры T (К) при расходах транспортирующего потока аргона $V_{\text{Ar}} = 0.22$ и 1.0 л/мин. Расчеты показали, что в составе ИСП во всем рассмотренном диапазоне температур основными компонентами являются нейтральные атомарные Ar, H, O и N (рис. 3а, в; 4а, в), поскольку степень их ионизации является достаточно низкой из-за высоких первых потенциалов ионизации данных атомов. Наблюдаемое на графиках небольшое снижение концентрации данных атомов с ростом температуры обусловлено преимущественно температурным расширением газов ИСП.

Концентрации всех полиатомных нейтральных частиц, в том числе и аргонсодержащих (кроме ArN), снижаются с ростом температуры, что соответствует их температурной диссоциации. Только для частиц ArN в диапазоне температур 3500–5000 К прослеживается рост концентрации на порядок величины, достижение максимума, а затем ее снижение. Изменение скорости транспортирующего потока аргона в пять раз (от 0.22 до 1.0 л/мин) практически не изменяет все описанные зависимости.

Концентрации всех ионных аргонсодержащих частиц повышаются с ростом температуры ИСП (рис. 4б, г). При этом наиболее высокие содержания в плазме прогнозируются для ионов Ar^+ , ArH^+ , Ar_2^+ и ArO^+ . Концентрации атомных ионов H^+ , O^+ и N^+ также возрастают с ростом температуры и их содержание в ИСП определяется первым потенциалом ионизации атомов этих элементов и концентрациями данных элементов в исходном расчетном составе плазмы. Характер температурного поведения всех остальных полиатомных ионов практически одинаков (рис. 3б, г): повышение концентрации данных частиц до температур 3500–6000 К, достижение максимума и дальнейшее снижение. Изменение скорости транспортирующего потока аргона в пять раз практически не изменяет все описанные зависимости.

Рассчитанные по графикам рис. 4б, г температурные зависимости логарифмов эффективности образования основных фоновых аргидных ионов $n(\text{ArM}^+)/n(\text{M}^+)$ в ИСП приведены на рис. 5 при расходах транспортирующего потока аргона $V_{\text{Ar}} = 0.22$ и 1.0 л/мин. Для всех рассмотренных четырех типов аргидных ионов наблюдается общий вид зависимостей: увеличение отношения $n(\text{ArM}^+)/n(\text{M}^+)$ при понижении температуры плазмы. Это полностью соответствует нашим экспериментальным данным (рис. 2). Диапазон расчетных значений $n(\text{ArM}^+)/n(\text{M}^+)$ для условий нормальной ИСП (6000–8000 К) приведен в табл. 2 (ppm). Видно, что он достаточно близко соответствует диапазону $n(\text{ArM}^+)/n(\text{M}^+)$, полученному в нашем эксперименте и в экспериментах других авторов с различными операционными условиями анализа.

Сравнение энергий диссоциации основных фоновых аргидных ионов ArC^+ , ArF^+ , ArS^+ , ArCl^+ и опубликованных экспериментальных сведений по эффективности образования этих аргидных ионов ArM^+/M^+ (табл. 2) с аналогичными показателями рассмотренных в работе ионов ArH^+ , ArN^+ , ArO^+ , Ar_2^+ позволяет считать, что отмеченные в данной работе закономерности распространяются на всю группу основных фоновых однозарядных аргидных ионов.

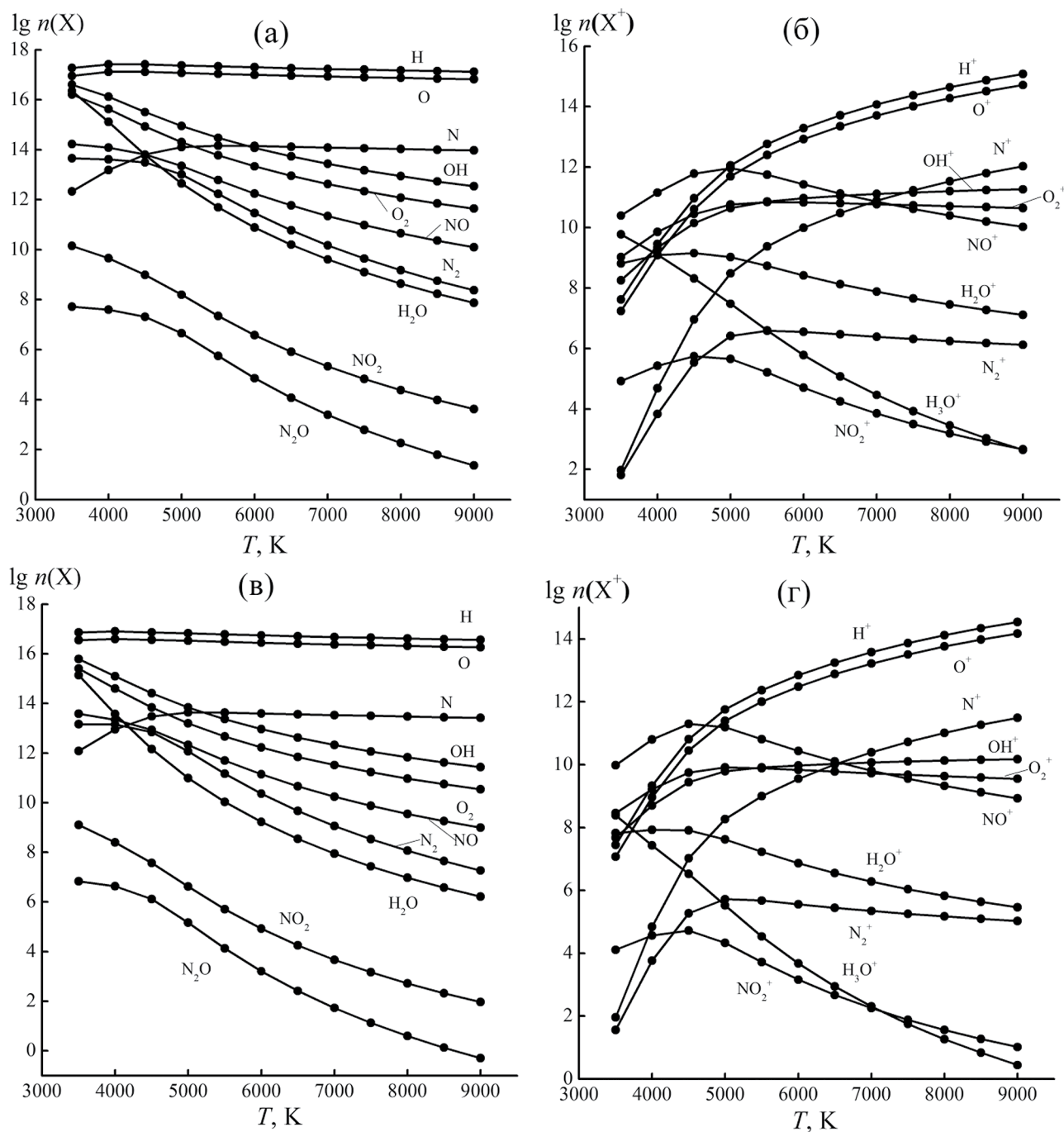


Рис. 3. Расчетное изменение логарифмов концентрации (см^{-3}) основных фоновых нейтральных частиц $n(X)$ и их ионов $n(X^+)$ в ИСП в зависимости от температуры T (K) при различных расходах транспортирующего потока аргона V_{Ar} , л/мин: (а), (б) – 0.22; (в), (г) – 1.0.

Экспериментально и теоретически изучено поведение основных фоновых однозарядных аргидных ионов ArH^+ , ArN^+ , ArO^+ и Ar_2^+ в методе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой в зависимости от операционных условий анализа. Показано, что интенсивность данных ионов уменьшается при снижении температуры

плазмы. Эффективность образования данных фоновых ионов, измеряемая отношением ArM^+/M^+ , возрастает при уменьшении температуры плазмы. Изменение скорости транспортирующего потока аргона в обычно применяемых диапазонах не изменяет отмеченные зависимости. Получено достаточно хорошее совпадение наших экспериментальных и теоретических данных между собой, а также с опубликованными

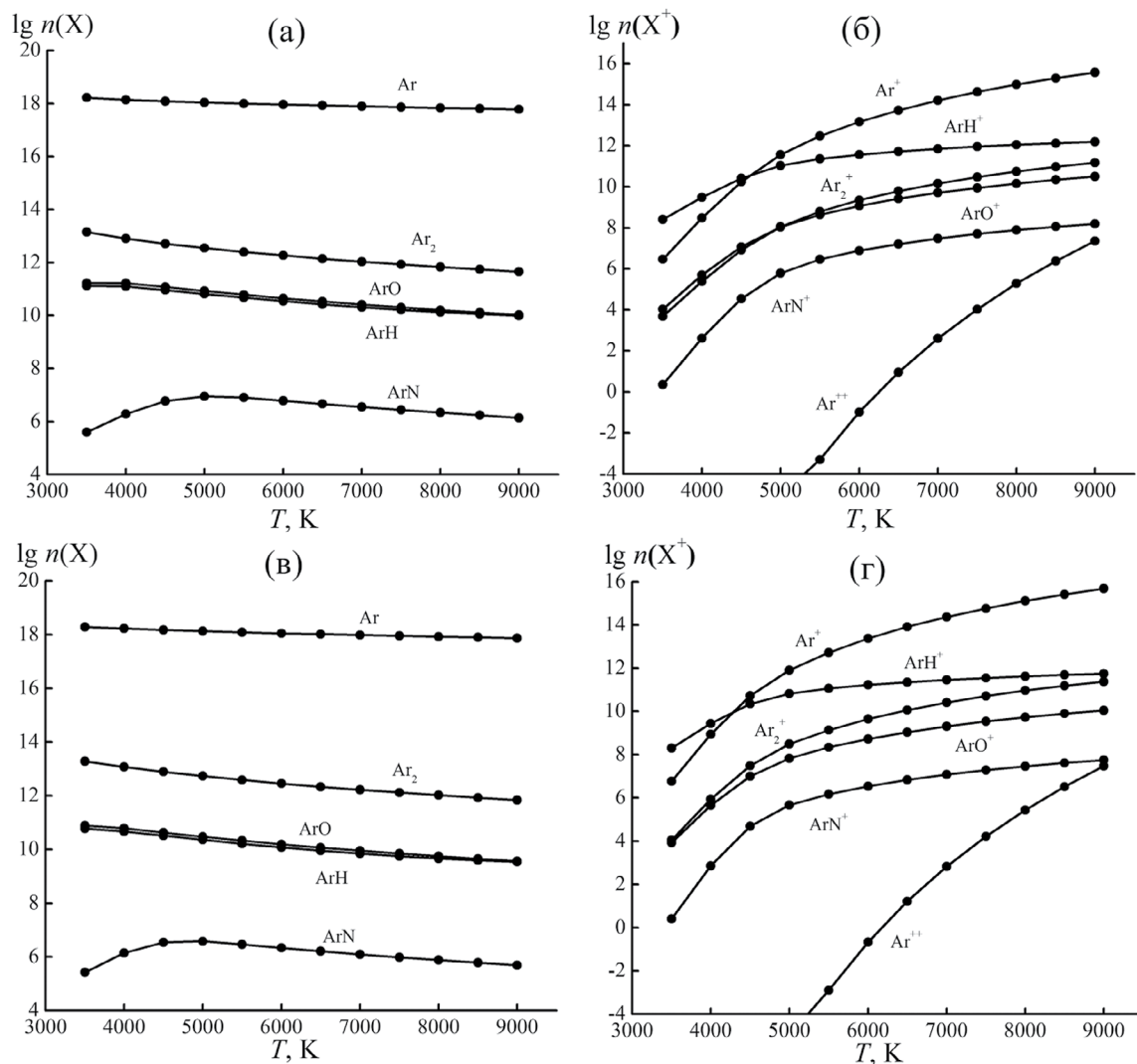


Рис. 4. Расчетное изменение логарифмов концентрации (см^{-3}) основных фоновых нейтральных аргонсодержащих частиц $n(X)$ и их ионов $n(X^+)$ в ИСП в зависимости от температуры $T(\text{K})$ при различных расходах транспортирующего потока аргона V_{Ar} , л/мин: (а), (б) – 0.22; (в), (г) – 1.0.

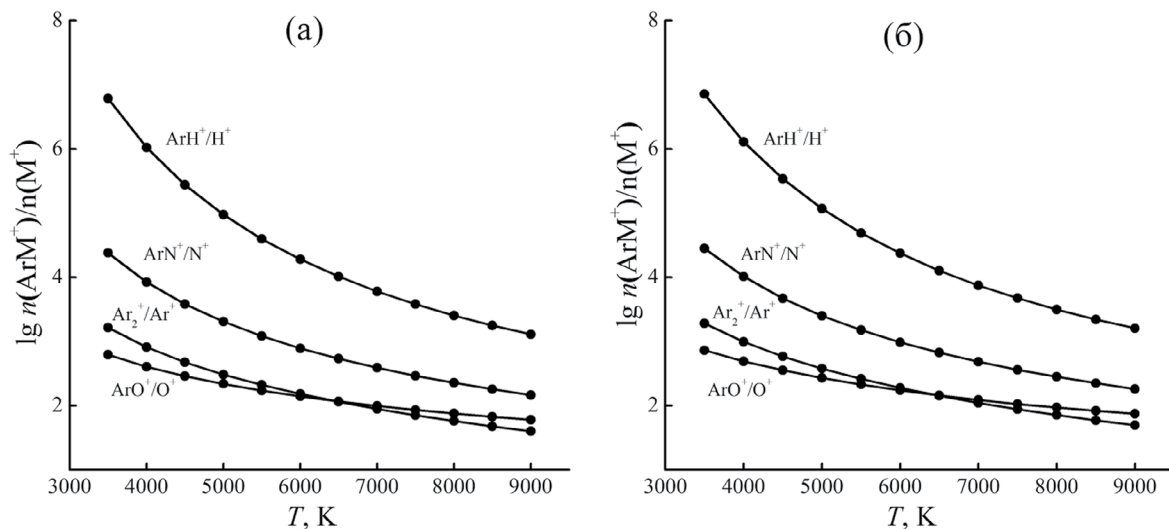


Рис. 5. Расчетное изменение логарифмов эффективности образования основных фоновых аргидных ионов $n(\text{ArgM}^+)/n(\text{M}^+)$ (ррм) в ИСП в зависимости от температуры $T(\text{K})$ при различных расходах транспортирующего потока аргона V_{Ar} , л/мин: (а) – 0.22; (б) – 1.0.

экспериментальными результатами других авторов. Это является дальнейшим подтверждением правильности термодинамической модели термохимических процессов для метода масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, ее применимостью для аналитических приложений метода. Кроме того, полученные результаты позволяют заключить, что основные фоновые аргидные ионы образуются непосредственно в индуктивно связанной плазме.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Уральского федерального университета, Института металлургии Уральского отделения Российской академии наук и Кубанского государственного университета. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

Работа выполнена с использованием научно-оборудования Центра коллективного пользования “Эколого-аналитический центр” Кубанского госуниверситета.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пупышев А.А. Однозарядные аргидные ионы ArM^+ в методе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Обзор // Журн. аналит. химии. 2023. Т. 78. № 9. С. 783. <https://doi.org/10.31857/S0044450223090116> (Pupyshev A.A. Singly charged argide ArM^+ ions in inductively coupled plasma–mass spectrometry // J. Anal. Chem. 1998. V. 53. № 9. P. 783. <https://doi.org/10.1134/S1061934823090113>)
2. Пупышев А.А., Суриков В.Т. Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой. Образование ионов. Екатеринбург: УрО РАН, 2006. 276 с.
3. Пупышев А.А., Сермягин Б.А. Дискриминация ионов по массе при изотопном анализе в методе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Екатеринбург: ГОУ ВПО УГТУ-УПИ, 2006. 132 с.
4. Houk R.S., Praphairaksit Narong. Dissociation of polyatomic ions in the inductively coupled plasma // Spectrochim. Acta B: Atom. Spectrosc. 2001. V. 56. P. 1069. [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(01\)00236-1](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(01)00236-1)
5. Becker J.S., Dietze H.-J. Investigations on cluster and molecular ion formation by plasma mass spectrometry // Fresenius J. Anal. Chem. 1997. V. 359. P. 338. <https://doi.org/10.1007/s002160050583>
6. Becker J.S., Seifert G., Saprykin A.I., Dietze H.-J. Mass spectrometric and theoretical investigations into the formation of argon molecular ions in plasma mass spectrometry // J. Anal. Atom. Spectrom. 1996. V. 11. P. 643. <https://doi.org/10.1039/JA9961100643>
7. Fang Liu. Building a database with background equivalent concentrations to predict spectral overlaps in ICP-MS. Diss. ... doctor of philosophy. Ohio, USA: The Ohio State University, 2017. 342 p.
8. Белов Г. В. Термодинамическое моделирование: методы, алгоритмы, программы. М.: Научный мир, 2002. 184 с.
9. Трусов Б.Г. TERRA. Программа термодинамического расчета состава фаз произвольных гетерогенных систем, а также их термодинамических и транспортных свойств. М.: МВТУ им. Н.Э. Баумана, 2005.
10. Белов Г.В., Трусов Б.Г. Термодинамическое моделирование химически реагирующих систем. М.: МГТУ имени Н.Э. Баумана, 2013. 96 с.
11. Belov G.V., Iorish V.S., Yungman V.S. IVTAN-THERMO for Windows – database on thermodynamic properties and related software // Calphad. 1999. V. 23. № 2. P. 173. [https://doi.org/10.1016/S0364-5916\(99\)00023-1](https://doi.org/10.1016/S0364-5916(99)00023-1)
12. Мальцев М.А., Морозов И.В., Осина Е.Л. Термодинамические функции ArO и ArO^+ // Теплофизика высоких температур. 2020. Т. 58. № 2. С. 202. <https://doi.org/10.31857/S0040364420020131> (Maltsev A., Morozov I.V., Osina E.L. Thermodynamic functions of ArO and ArO^+ // High Temperature. 2020. V. 58. № 2. P. 184. <https://doi.org/10.1134/S0018151X20020133>)
13. Мальцев М.А., Морозов И.В., Осина Е.Л. Термодинамические свойства димеров аргона и Ar_2^+ // Теплофизика высоких температур. 2019. Т. 57. № 1. С. 42. <https://doi.org/10.1134/S0040364419010174> (Maltsev A., Morozov I.V., Osina E.L. Thermodynamic properties of Ar_2^+ and Ar_2 argon dimers // High Temperature. 2019. V. 57. № 1. P. 37. <https://doi.org/10.1134/S0018151X19010176>)
14. Maltcev M.A., Aksenova S.A., Morozov I.V., Minenkov Y., Osina E.L. Ab initio calculations of the interaction potentials and thermodynamic functions for ArN and ArN^+ // J. Comput. Chem. 2023. V. 44. № 12. P. 1189. <https://doi.org/10.1002/jcc.27078>
15. Мальцев М.А., Морозов И.В., Осина Е.Л. Термодинамические свойства ArH^+ и ArH // Теплофизика высоких температур. 2019. Т. 57. № 3. С. 367. <https://doi.org/10.1134/S0040364419020121> (Maltsev A., Morozov I.V., Osina E.L. Thermodynamic properties of ArH^+ and ArH // High Temperature. 2019. V. 57. № 3. P. 335. <https://doi.org/10.1134/S0018151X19020123>)

EXPERIMENTAL AND THEORETICAL STUDY OF THE MANIFESTATION OF THE MAIN BACKGROUND SINGLE-CHARGE ARGID IONS ArM^+ IN THE INDUCTIVELY COUPLED PLASMA MASS SPECTROMETRY METHOD

A. A. Pupyshev^{a,*}, P.V. Zaitseva^{a,b}, M. Yu. Burylin^c, A.G. Abakumov^c, P.G. Abakumov^c

^a*Department of Physical and Chemical Methods of Analysis, Institute of Physics and Technology, Ural Federal University, Yekaterinburg, 620062 Russia*

^b*Institute of Metallurgy. Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620016 Russia*

^c*Analytical Chemistry Department, Faculty of Chemistry and High Technologies, Kuban State University, Krasnodar, 350040 Russia*

**E-mail: pupyshev@gmail.com*

Abstract. Single-charge background argid ions ArH^+ , ArN^+ , ArO^+ and Ar_2^+ create very strong spectral interference in elemental and isotope analysis by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The behavior of these basic background argid ions under ICP-MS conditions is experimentally investigated depending on the high-frequency plasma power and the velocity of the argon transporting stream. Theoretically, the behavior of these argid ions has been studied by thermodynamic modeling with varying plasma temperature and velocity of the transporting argon stream. The general patterns of changes in the intensity of the main background argid ions and the efficiency of their formation with varying operational parameters of inductively coupled plasma are noted. A good coincidence of the experimental and theoretical dependences obtained has been achieved.

Keywords: inductively coupled plasma mass spectrometry, basic background argid ions, operating parameters of the device, temperature of inductively coupled plasma, efficiency of formation of argid ions, ion discrimination by mass

УДК 543.51, 549.753.11

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА И U-Pb-ДАТИРОВАНИЕ АПАТИТА МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ И ЛАЗЕРНОЙ АБЛЯЦИЕЙ НА NexION 300S С ПРИСТАВКОЙ NWR 213

© 2024 г. М. В. Червяковская^{а,*}, В. С. Червяковский^а, А. А. Пупышев^б, С. Л. Вотяков^а

^аИнститут геологии и геохимии им. академика А.Н. Заварицкого Уральского отделения Российской академии наук
ул. Академика Вонсовского, 15, Екатеринбург, 620110 Россия

^бУральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина
ул. Мира, 19, Екатеринбург, 620016 Россия

*E-mail: zaitseva.mv1991@gmail.com

Поступила в редакцию 28.02.2024 г.

После доработки 19.03.2024 г.

Принята к публикации 25.03.2024 г.

Выполнено определение микроэлементного состава и изотопных отношений Pb/U, Pb/Th и Pb/Pb в апатите методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и лазерной абляцией на приборе NexION 300S с приставкой для лазерной абляции (ЛА) NWR 213, описана процедура обработки экспериментальных данных. Определены оптимальные операционные параметры масс-спектрометра и ЛА-приставки, в том числе при определении микроэлементного состава и U/Pb-датирования из одного кратера размером 50 мкм и более. При определении микроэлементного состава апатита использовали стандартные синтетические стекла NIST SRM-612, -610; при измерении изотопных отношений применяли образцы сравнения (ОС) – апатиты Durango, Mun Mad и Mud Tank, проанализированные в лабораториях разных стран. По данным сканирующей электронной микроскопии проанализирована форма кратеров лазерной абляции в зернах ОС апатита; показана значимая неоднородность зерен по содержанию матричных и примесных элементов. Представлены метрологические характеристики методик за период измерения 2021–2023 гг. Повторяемость измерения изотопных отношений $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ и $^{208}\text{Pb}/^{232}\text{Th}$ составляет 0.54 и 0.72, 7.5 и 14.3, 1.5 и 4.4% для Mun Mad, Durango, Mud Tank соответственно. Вариации содержания РЗЭ в образцах сравнения (s_r) составляют 11–24, 5–13, 0.3–7% для Mun Mad, Durango, Mud Tank соответственно. Датировки ОС апатита в пределах неопределенности соответствуют таковым, полученным в мировых лабораториях. Методики опробованы при анализе ряда проб апатита из уральских объектов.

Ключевые слова: U/Pb-датирование, апатит, масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, лазерная абляция, оптимизация операционных параметров, определение химического состава апатитов.

DOI: 10.31857/S0044450224090052, EDN: tiwlpw

Апатит $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{OH}, \text{Cl})]$ – акцессорный минерал различных горных пород, самый распространенный фосфат на Земле, имеющий чрезвычайно гибкую кристаллическую структуру с потенциальной возможностью обогащения отдельных секторов роста кристаллов. Вопросам геохимии редкоземельных элементов (РЗЭ) и других микроэлементов в эндогенных апатитах посвящено большое число публикаций (см., например, [1]). Различные

одно- (Na^+), двух- (Sr^{2+} , Pb^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} и др.), трех- (РЗЭ), четырех- (Th^{4+} и U^{4+}) и шестивалентные (U^{6+}) катионы присутствуют в апатитах в значимом количестве и замещают в структуре кальций. Группа PO_4^{3-} замещается на ионы AsO_4^{3-} , VO_4^{3-} , MnO_4^{3-} , CrO_4^{3-} и CO_3^{2-} . В природных апатитах широко распространены взаимные замещения анионов OH^- , F^- и Cl^- ; имеет место их замещение на ионы CO_3^{2-} и молекулы H_2O , O_2 , CO_2 . Наиболее типичные

примеси в минерале — Mn, Mg, Fe, Sr, Pb, Al, Th, РЗЭ; содержание РЗЭ колеблется от долей ppm до долей мас.%. Свинец имеет как радиогенную ($Pb_{\text{рад}}$), так и нерадиогенную ($Pb_{\text{ком}}$) компоненты; доля последней может достигать значимых величин. Содержание и распределение РЗЭ — важный петрогенетический индикатор, несущий информацию об условиях образования и источнике вещества [1–4]. Зерна апатита достаточно часто зональны. Широкий спектр микроэлементов, представленных в апатите, открывает возможность исследования “тепловых временных шкал” (временной динамики изменения температуры) и построения термодинамических моделей эволюции минерала, в том числе по профилям распределения примесных элементов и изотопов в зональных зернах [5, 6]. В связи с этим и сегодня остается актуальным развитие и совершенствование локальных методик определения микроэлементного и U-Pb-изотопного состава минерала и его датирование, в том числе с использованием масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и лазерной абляцией (ЛА-МС-ИСП). Данные, получаемые по подобным локальным методикам, составляют основу при решении задач петрохронологии о восстановлении рТ-условий, времени образования и эволюции минерала [7, 8].

ЛА-МС-ИСП-определение химического состава. Правильность и прецизионность анализа зерна минерала методом ЛА-МС-ИСП определяется используемым аналитическим оборудованием — типом масс-спектрометра, его чувствительностью, разрешением и временным дрейфом, типом ЛА-приставки, длиной волны излучения и формой импульса лазера, а также внешним образцом сравнения (ОС), позволяющим учесть влияние матричных эффектов и фракционирования [9]. Известно, что количество и форма продуктов абляции при одних и тех же условиях испарения определяются физико-химическими характеристиками материала. Различие свойств зерна минерала и ОС приводит к значимому различию процессов абляции в них. Для проведения корректного ЛА-МС-ИСП-анализа требуется достаточно близкое соответствие состава зерна минерала и ОС, в том числе диапазона концентраций U и Th, а также “реакции” на абляцию ОС (см., например, [10]). Использование ОС со свойствами, подобными свойствам пробы, с точно и достоверно определенным возрастом, близким к возрасту изучаемого зерна минерала, повышает точность анализов, позволяет оптимизировать размер пятна лазерного луча для получения оптимальных и сопоставимых скоростей счета для ОС и анализируемого зерна. К числу основных проблем при

ЛА-МС-ИСП-анализе апатита следует отнести отсутствие или крайне ограниченное число ОС в виде соответствующей сертифицированной гомогенной матрицы с варьируемым “выходом абляции” — количеством материала, транспортируемого в плазму, подобным таковому для исследуемого зерна апатита [11]. Актуальность подбора ОС, соответствующего по свойствам исследуемой пробе апатита разнообразного состава и возраста, сохраняется и сегодня.

Для повышения правильности и прецизионности ЛА-МС-ИСП-анализа наряду с применением внешнего стандарта достаточно широко используется способ внутренней стандартизации [12], позволяющий вносить поправку на разницу в выходе абляции между изучаемым зерном апатита и ОС ([13]). Традиционно в качестве внутреннего стандарта используется содержание основного матричного компонента пробы, которое определяется независимо, в частности с использованием микрозондового анализа или в некоторых случаях на основе расчета в предположении о стехиометричности состава апатита. Внутренняя стандартизация позволяет проводить градуировку с использованием стандарта, матрица которого не соответствует матрице минерала. На сегодня наиболее часто в качестве первичных стандартов при ЛА-МС-ИСП-анализе минералов, в том числе и апатита, используются синтетические стекла NIST SRM 610/611 и 612/613 [11].

ЛА-МС-ИСП-определение изотопного состава апатита, корректировка элементного фракционирования, коррекция на $Pb_{\text{ком}}$. Первое U-Pb-датирование апатита с использованием термоионизационной масс-спектрометрии (ТИМС) выполнено в работе [14]. Вследствие более высокой производительности ЛА-МС-ИСП-методики *in situ* по сравнению ТИМС и ее локальности в последующем было выполнено большое число датировок апатита, в частности с использованием при абляции эксимерного лазера с излучением на длине волны 193 нм [15–17]. Однако ТИМС-датировки точнее, чем ЛА-МС-ИСП вследствие зависимости последних от “качества” внешнего ОС, из-за наложения матричных эффектов, сложности коррекции на $Pb_{\text{ком}}$ и др. В ряде публикаций (см., например, [18]) с целью внесения поправок на $Pb_{\text{ком}}$ при ТИМС-датировании апатита применяли ступенчатое выщелачивание минерала с выделением Pb-фракций с различным соотношением $Pb_{\text{ком}}/Pb_{\text{рад}}$. Подобная процедура невозможна при датировании локальными методами.

Известно [15], что эффект элементного фракционирования при ЛА-МС-ИСП-определении изотопных отношений $^{207}Pb/^{206}Pb$,

$^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$, $^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$, $^{208}\text{Pb}/^{232}\text{Th}$ в апатите может вносить значимую погрешность; с его ростом увеличивается и аналитическая неопределенность датирования минерала. Элементное фракционирование зависит от экспериментальных условий, в первую очередь от размера пятна лазерного луча (соотношения диаметра и глубины кратера абляции): в работе [17] показано, что при размере пятна абляции 25–60 мкм от эксимерного лазера элементное фракционирование достаточно значимо; напротив, при размере 60 мкм и более фракционирование практически не фиксируется. С целью снижения эффекта элементного фракционирования используют растровый режим сканирования лазером пробы [15].

Для снижения эффекта фракционирования, кроме оптимизации условий абляции материала, используют и расчетные (модельные) корректировки:

Линейную экстраполяцию измеренных изотопных отношений к начальному моменту лазерной абляции путем определения точки пересечения линии регрессии с осью ординат (intercept-method). При этом не принимается во внимание зависимость величины изотопных отношений от времени абляции: она сводится к значению в момент начала абляции. Данная процедура одновременно вносит поправку на эффект дискриминации ионов по массе и дрейф операционных параметров [15, 19];

Усреднение сигнала с корректировкой по ОС полученных средних значений изотопных отношений [17].

В работе [15] описан ряд методических приемов корректировки Pb_{com} в пробах апатита с высоким содержанием последнего, каждый из которых имеет свои достоинства и ограничения:

Коррекция по ^{204}Pb является наиболее эффективной, поскольку не предполагает конкордантность U-Pb-системы. Однако она требует точного измерения сигнала изотопа ^{204}Pb , на который накладывается сигнал от ^{204}Hg , что также требует введения соответствующей корректировки. Кроме того, должен быть известен (или предположен) изотопный состав Pb_{com} — значения отношений $^{206}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$, $^{207}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$ и $^{208}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$. Коррекция затруднена при пониженных значениях отношения $^{206}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$. Прием используется преимущественно при ТИМС-датировании;

Коррекция по ^{207}Pb предполагает начальную конкордантность соотношений $^{238}\text{U}/^{206}\text{Pb}$ и $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$; требуется точное измерение отношений $^{238}\text{U}/^{206}\text{Pb}$ и $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$.

Коррекция по ^{208}Pb применяется достаточно редко; предполагает начальную конкордантность соотношений $^{238}\text{U}/^{206}\text{Pb}$ и $^{208}\text{Pb}/^{232}\text{Th}$;

требуется точное измерение отношений $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ и $^{232}\text{Th}/^{238}\text{U}$.

Коррекция дает удовлетворительные результаты для образцов с низким значением отношений Th/U. Исходный изотопный состав свинца, как правило, оценивают с использованием моделей эволюции свинца, в частности модели Стейси — Крамерс [20], или путем анализа комагматичной фазы (калиевого полевого шпата или плагиоклаза) с низким содержанием урана.

Коррекция с использованием диаграммы Тера — Вассербург [21] предполагает, что U-Pb-система за вычетом нерадиогенной компоненты конкордантна. Коррекция не применяется для обломочных апатитов с разным исходным соотношением нерадиогенной компоненты $^{207}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$.

При датировании обломочного апатита важно, чтобы используемая поправка на Pb_{com} была применима к одиночным зернам апатита; наиболее приемлемым подходом является одновременная коррекция по ^{207}Pb и ^{208}Pb с использованием модели эволюции Pb в земной коре по данным [20].

Образцы сравнения апатита. Поскольку в аналитической практике не существует сертифицированных стандартных образцов апатита в виде отдельных зерен, при ЛА-МС-ИСП-анализе в качестве референсных материалов (или ОС) принято использовать природные образцы апатита, микроэлементный и изотопный состав которых, а также их возраст определен с использованием различных аналитических методик — ТИМС, вторично-ионная масс-спектрометрия, ЛА-МС-ИСП и др. Поиск и обоснование ОС для датирования апатита затруднен из-за относительно низкого содержания в нем U и Pb, наличия Pb_{com} , а также потерь Pb в результате диффузии в ходе геологической эволюции минерала, что приводит к дискордантности возрастных данных [17].

Представляется, что дальнейшее развитие методик датирования апатита должно быть направлено на совершенствование процедуры обработки экспериментальных данных, корректировки содержания Pb_{com} , а также на поиск потенциальных ОС апатита, имеющих возраст, согласующийся с датировками других сопутствующих минералов и геологическими данными [17]. Без сомнения, на каждом новом типе коммерческого аналитического оборудования необходимым остается этап выбора и настройки оптимальных операционных параметров масс-спектрометра и ЛА-приставки, а также этап отработки алгоритма обсчета результатов.

Цель настоящей работы — реализация методик ЛА-МС-ИСП-определения

микроэлементного состава, изотопных отношений $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$, $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$, $^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$, $^{208}\text{Pb}/^{232}\text{Th}$ и датирования апатита, в том числе из одного кратера с использованием квадрупольного масс-спектрометра NexION 300S (PerkinElmer) с ЛА-приставкой NWR 213 (ESI), оптимизация экспериментальных условий и процедуры обработки данных, тестовые определения возраста апатитов с оценкой метрологических характеристик методик на основе использования ОС, датированных в различных мировых лабораториях.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Аналитическое оборудование и образцы сравнения. Аналитические методики реализованы на квадрупольном ИСП-спектрометре NexION 300S (диапазон анализируемых масс 5–285 а.е.м.; разрешающая способность 0.3–3.0 а.е.м.; режим работы стандартный) и ЛА-приставке NWR 213, синхронизированной с масс-спектрометром (лазер Nd:YAG с рабочей длиной волны излучения 213 нм; длительностью импульса 4–7 нс; частотой следования импульсов 1–20 Гц; диаметром пятна лазера 4–110 мкм; объемом ЛА-ячейки 100 см³). Для транспортировки материала пробы к масс-спектрометру после абляции применяли гелий (марка А, ТУ 0271–135–31323949–2005); для переноса пробы в горелку масс-спектрометра – аргон (ГОСТ 10157-2016) (ниже потоки этих газов обозначены как транспортирующий и пробоподающий соответственно).

При определении микроэлементного состава апатита в качестве внешнего стандарта использовали синтетические стекла NIST SRM 612 и 610 (Standard Reference Material of the National Institute of Standards and Technology, USA) [22]. Стекло NIST610 характеризуется высоким

содержанием U, Th, Pb и высокой степенью однородности по составу [23].

При определении изотопных отношений $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$, $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$, $^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$, $^{208}\text{Pb}/^{232}\text{Th}$ использовали ряд ОС апатита, датированных в различных лабораториях (табл. 1): образец Durango (карьер Cerro de Mercado, северная окраина г. Durango, Мексика) с (U-Th)/He-возрастом 31.02 ± 1.01 млн. лет ($N = 24$) [24]; образец Mun Mad (Мадагаскар) с U-Pb-возрастом по конкордии 473.5 ± 0.7 млн. лет (метод ТИМС) [25] и образец Mud Tank (карбонаты Mud Tank, Австралия) возрастом 349 ± 31 млн. лет при коррекции Pb_{com} по изотопу ^{207}Pb [15]. Нами использованы отдельные зерна ОС апатита, вмонтированные в блоки (“шашки”) эпоксидной смолой. Заметим, что ранее зональность зерен данных ОС апатита была проанализирована лишь по небольшому числу микроэлементов [15, 17, 26–28]. Перед анализом поверхность кристаллов, смонтированных в шашки, шлифовали, полировали и обрабатывали для удаления загрязнений 0.5 М HNO_3 (3 мас.%).

Форма кратеров лазерной абляции, а также содержание матричных и примесных макрокомпонентов в зернах ОС апатита анализировали по данным сканирующей электронной микроскопии (микроскоп Jeol JSM6390LV, оборудованный энергодисперсионным спектрометром Oxford Instruments EDS X-max80) и результатам рентгеноспектрального микроанализа на приборе CAMECA SX 100.

Методики ЛА-МС-ИСП-анализа. Операционные параметры оборудования при измерении микроэлементного состава. Методика, далее условно обозначенная как $\text{M}_{\text{элемент}}$, включала определение в апатите содержания следующих элементов: Li, Be, Na, Mg, Al, Si, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Fe, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Rb, Sr, Y, Zr,

Таблица 1. Содержание U, Pb, Th (ppm) и значения U-Pb-возраста (T , млн. лет) образцов сравнения апатита Mun Mad, Durango и Mud Tank согласно литературным данным

Проба	Th	U	Pb	T	Метод
Mun Mad	–*	–	–	473.5 ± 0.7	ТИМС [25]
	–	–	–	474.25 ± 0.41	ТИМС [17]
Durango	556	31.7	1.0	$30.6 \pm 2.3^{**}$	ЛА-МС-ИСП [15]
Mud Tank	–	–	–	455 ± 51	ЛА-МС-ИСП [17]
	47.3	8.96	5.98	349 ± 31	ЛА-МС-ИСП [15]

*Данные отсутствуют.

** $^{40}\text{Ar}/^{39}\text{Ar}$ -возраст пород, содержащих апатит, составляет 31.44 ± 0.18 млн. лет [24].

Nb, Mo, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Cs, Ba, PЗЭ, Hf, Ta, W, Tl, Pb, Bi, Th и U.

Корректировку дрейфа масс-спектрометра проводили по стеклу NIST SRM 610, измеренному методом “взятия в вилку” через 10 кратеров; в качестве вторичного ОС использовали стекло NIST SRM 612.

Результаты обрабатывали в программе GLITTER V. 4.4 [29] с использованием содержания CaO в апатитах и SiO₂ в стеклах в качестве внутреннего стандарта. Согласно данным рентгеноспектрального микроанализа содержание CaO в ОС апатита Durango, Mud Tank и Mun Mad составляет 54.2, 54.9 и 58.1 мас.% соответственно, а содержание SiO₂ в стеклах NIST SRM 610 и 612 согласно данным [30] – 71.5 и 72.7 мас.%.

Использовали следующие операционные параметры оборудования: (1) мощность высокочастотного генератора масс-спектрометра ~1500 Вт; число циклов сканирования – 1; число реплик – 500; расход плазмообразующего, вспомогательного и пробоподающего потоков аргона при длине соединительной трубки масс-спектрометра с ЛА-приставкой 1.5 м – 18.00, ~1.2 и 0.94 дм³/мин соответственно; время задержки на массе – 10 мс; (2) плотность энергии лазерного излучения ЛА-приставки – 11–11.5 Дж/см²; частота повторения импульсов – 10 Гц; диаметр пятна лазера – 25 мкм; расход транспортирующего потока гелия – 400 см³/мин; время разогрева лазера – 20 с; время его работы – 50 с; траектория движения лазерного луча по зерну апатита – “точечная” абляция, по стеклам – линия (скорость 70 мкм/с, длина – ~700 мкм, количество проходов – 4).

Содержание микроэлементов в единичном анализе n рассчитывали, следуя рекомендациям [29], по соотношению $c_X = (I_{Xi}/A_{Xi})/B_X$, где c_X – концентрация элемента X; I_{Xi} – интенсивность (за вычетом фона) изотопа i элемента X (имп/с); A_{Xi} – естественная распространенность изотопа i элемента X; B_X – отношение интенсивности (за вычетом фона) к концентрации для элемента X (имп/(с·ppm)). Значение B_X рассчитывали как $B_X = B_S (J_X/J_S)$, где B_S – отношение интенсивности к концентрации для внутреннего стандарта S (элемента кальция) в апатите (имп/(с·ppm)); J_X и J_S – отношение интенсивности к концентрации для элемента X и внутреннего стандарта S (элемента Si) в стандартном стекле (имп/(с·ppm)); значение J_X/J_S для n определяли методом интерполяции. Интенсивность для элемента рассчитывали по измеренной интенсивности изотопа элемента с учетом его естественной распространенности.

Операционные параметры оборудования при измерении изотопных отношений. Для

измерения сигналов изотопов ²⁹Si, ⁴³Ca, ²⁰²Hg, ²⁰⁴Pb, ²⁰⁶Pb, ²⁰⁷Pb, ²⁰⁸Pb, ²³⁸U и ²³²Th применяли стандартную схему сканирования по массам в режиме “прыжки по пикам”. Сигналы изотопов ²⁹Si и ⁴³Ca в последующем использовали для расчета концентраций U, Th и Pb в точке определения изотопных отношений ²⁰⁷Pb/²⁰⁶Pb, ²⁰⁶Pb/²³⁸U, ²⁰⁷Pb/²³⁵U, ²⁰⁸Pb/²³²Th и датирования апатита, используя содержание внутреннего стандарта CaO в апатите и SiO₂ в стеклах NIST SRM 610, 612. Сигналы, полученные в одном измерении, составляют цикл реплик (replicate). В одной реплике задавали несколько циклов сканирования (sweeps) всего диапазона. Время пребывания на каждой массе изотопов ²⁰²Hg, ²⁰⁴Pb, ²⁰⁷Pb составляло 30 мс (для остальных изотопов – 20 мс); количество циклов сканирования – 2; количество реплик – 500. В этих условиях время измерения одной реплики составляло 423 мс, а общее время измерения масс-спектра – 212 с; время работы лазера – 50 с. Для изотопов ²⁰²Hg, ²⁰⁴Pb и ²⁰⁷Pb время пребывания на массе увеличивали с целью большего накопления сигналов. Значение сигнала изотопа ²³⁵U рассчитывали по значениям сигнала от ²³⁸U с учетом естественной распространенности этих изотопов. Операционные параметры масс-спектрометра (положение горелки по оси X и Y; расход пробоподающего газа Ar; калибровка системы AutoLens для достижения максимальной эффективности пропускания интересующих изотопов) настраивали с помощью мультиэлементного раствора, содержащего 1 мкг/л Be, Ce, Fe, In, Li, Mg, Pb, U в 1%-ной (по массе) HNO₃, до достижения максимальных значений интенсивности сигналов элементов и обязательного выполнения следующих условий: приборный фон на массе 220 а.е.м. не должен превышать 1 имп/с; уровень сигнала оксидных ионов, определяемый отношением CeO⁺/Ce⁺, не должен превышать 0.025; уровень сигналов двухзарядных ионов, определяемый отношением Ce⁺⁺/Ce⁺, не должен превышать 0.03.

Работу ЛА-приставки настраивали с использованием стекла NIST610 с высоким содержанием U, Th, Pb и высокой степенью однородности по составу [23]: первоначально проводили настройку автолинзы и скорости пробоподающего потока аргона. Критериями настройки считали достижение максимального сигнала изотопа ²⁰⁶Pb и отношения ThO⁺/Th⁺ не более 0.02. Время прогрева лазера перед анализом составляло 20 с; время абляции – 50 с; расход транспортирующего потока гелия – 400 мл/мин.

Для выбора оптимальных операционных параметров ЛА-приставки на примере трех ОС апатита изучали влияние на метрологические

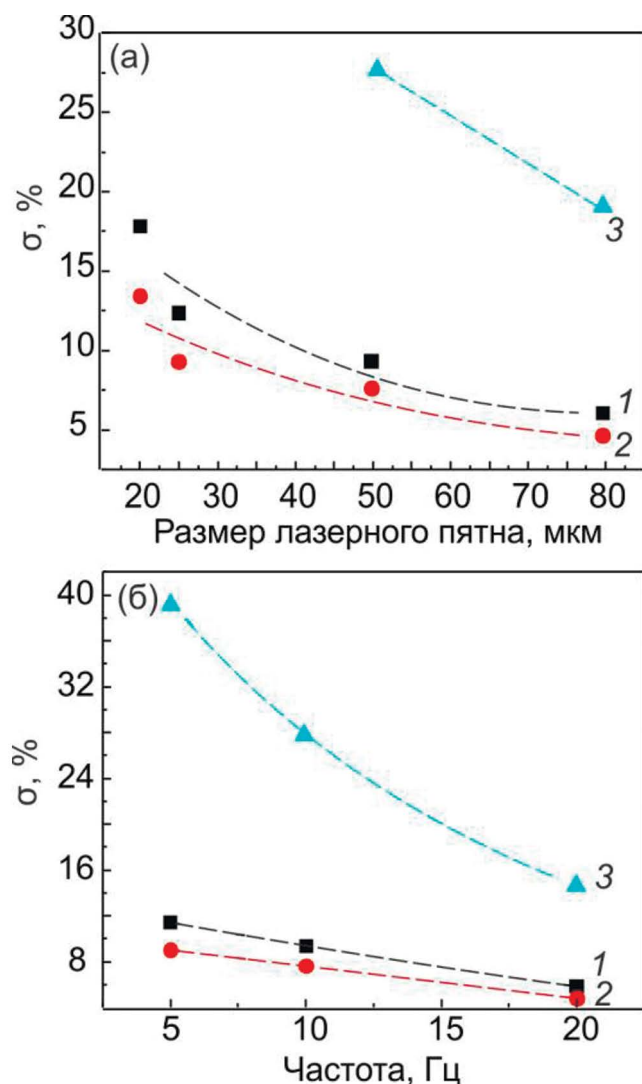


Рис. 1. Зависимости погрешности измерения изотопного отношения $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ (σ , %) в образцах сравнения апатита Mun Mad (1), Mud Tank (2), Durango (3) от операционных параметров ЛА-приставки: размера лазерного пятна (а) и частоты повторения импульса лазера (б).

характеристики методики размера пятна лазера в интервале 20–80 мкм, частоты повторения импульсов (5–20 Гц) и плотности энергии лазерного излучения (4.8–13.2 Дж/см²). Проанализировали вид кратера абляции, уровень аналитических сигналов, погрешность измерения изотопных отношений $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$, $^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$, $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$, $^{208}\text{Pb}/^{232}\text{Th}$ и величину эффекта элементного фракционирования.

Установили, что оптимизация параметров лазера обеспечивает повышение точности и снижение неопределенности значений изотопных отношений. На рис. 1 представлена зависимость погрешности (в виде 1σ) измерения изотопного отношения $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ от параметров лазера; при построении зависимостей для

каждого набора параметров проводили по три параллельных определения, по которым рассчитывали среднее значение.

С увеличением размера пятна лазера фиксируется снижение погрешности измерения изотопных отношений (рис. 1а); для апатита Durango данные при размере пятна лазера 20 и 25 мкм не представлены вследствие большого разброса полученных значений сигналов изотопов свинца, находящихся на уровне предела обнаружения методики. При увеличении частоты следования импульсов лазера погрешность измерения изотопных отношений снижается (рис. 1б); при увеличении плотности энергии погрешность практически не меняется.

Для качественной оценки вида кратера абляции (рис. 2) использовали четыре визуальных критерия: форма – округлая/овальная; края – ровные/неровные, четкие/изрезанные; дно – ровное/неровное; глубина – малая/средняя/значительная. При увеличении плотности энергии лазера заметного углубления кратера не происходит, четкость контуров также не возрастает, при этом дно кратера становится более ровным. С увеличением частоты импульсов фиксируется рост глубины кратера; его края при этом ровнее не становятся. С увеличением размера пятна лазера края кратера становятся более ровными. Все отмеченные особенности практически сохраняются для всех изученных ОС апатита.

Элементное фракционирование состава пробы может происходить во время лазерной абляции и при транспортировке материала до горелки, а также в незначительной степени и в самой плазменной горелке. Оценить индивидуальный вклад этих составляющих достаточно сложно. Нами рассмотрено влияние операционных параметров ЛА-приставки на параметр элементного фракционирования интегрально, без выделения вклада каждой из составляющих. Для этого, по аналогии с работой [31], использовали численный параметр элементного фракционирования η (с⁻¹), который определяли методом пересечения и рассчитывали как тангенс угла наклона линии регрессии измеренного изотопного отношения от времени измерения t , нормированный на значение точки ее пересечения с осью ординат при $t = 0$. Величина η характеризует относительное изменение изотопного отношения во время абляции, что позволяет сравнивать величину η для разных образцов апатита. Построение линии регрессии и определение точки ее пересечения с осью ординат выполняли в программе Origin 2021b [32] (рис. 3). Отметим, что высокая погрешность определения величины η для апатита Durango обусловлена низким содержанием свинца в пробе и соответственно

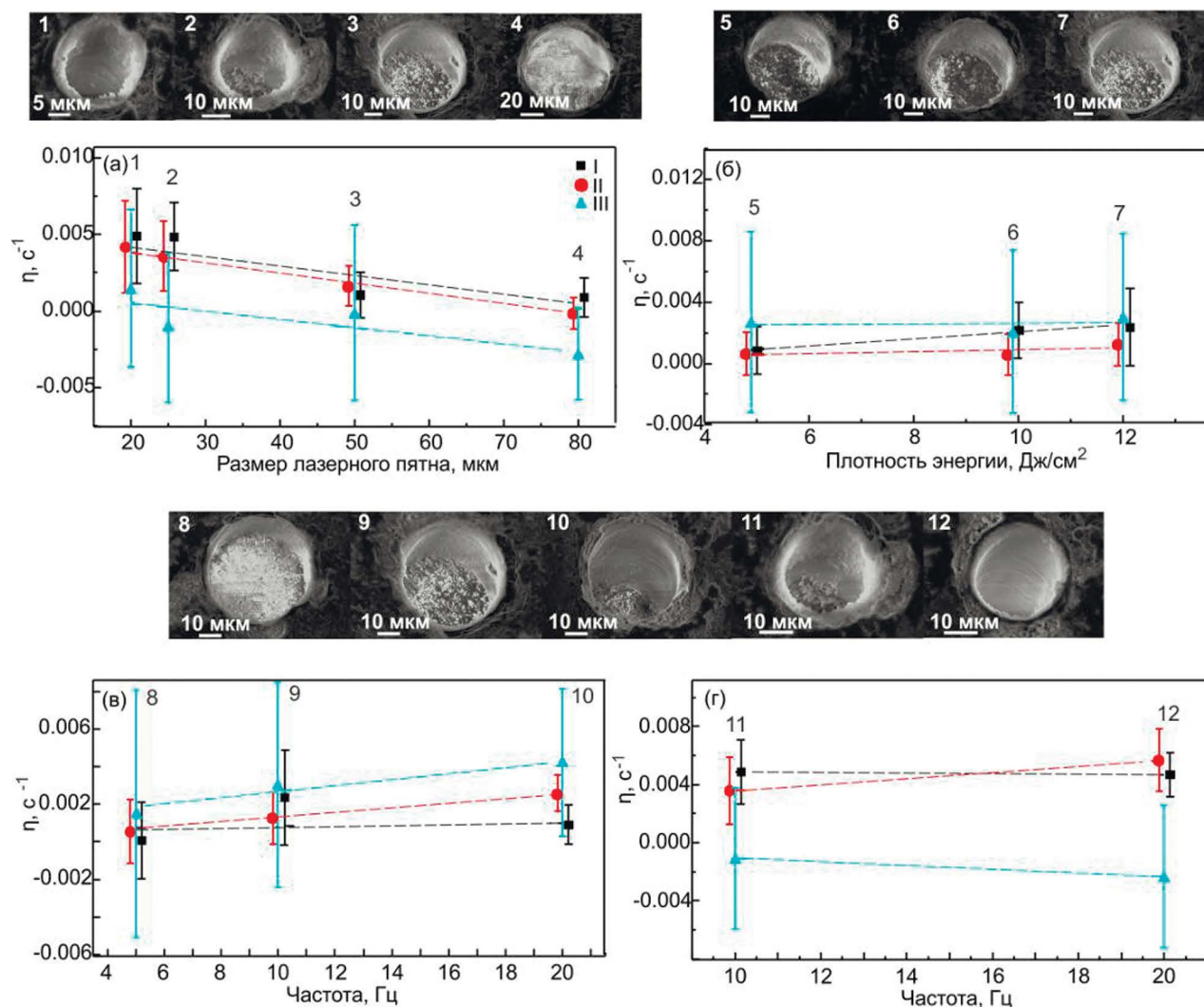


Рис. 2. Зависимости параметра элементного фракционирования η в образцах сравнения апатита Mun Mad (I), Mud Tank (II) и Durango (III) от размера лазерного пятна (а), плотности энергии (б) и частоты повторения импульсов лазера (в, г) при размере лазерного пятна 50 (в), 25 μm (г) и изображения во вторичных электронах на сканирующем электронном микроскопе кратеров абляции с номерами, соответствующими точкам на рисунках (а)–(г). Для наглядности и анализа формы кратера угол наклона столика сканирующего электронного микроскопа порядка 7° .

малой интенсивностью сигналов изотопов свинца, а также плохой повторяемостью результатов анализа. Установили, что с увеличением размера пятна лазера величина η для всех ОС апатита уменьшается (рис. 2). При размере пятна лазера 50 и 80 μm значения η в разных ОС апатита близки между собой. Повышение частоты повторения импульсов в целом приводит к возрастанию η . При росте плотности энергии лазера параметр η увеличивается незначительно.

Таким образом, основываясь на полученных данных о погрешностях измерения изотопных отношений и величине элементного фракционирования, можно заключить, что оптимальными операционными параметрами лазера для датирования апатита

являются следующие: плотность энергии – 12–12.5 J/cm^2 , частота импульсов – 10 Hz , размер пятна лазера – 50 μm и более. На рис. 3 представлены типичные временные зависимости сигналов изотопов Pb, U и Th в ОС апатита при оптимальных операционных параметрах, а также полученные при этом значения изотопных отношений $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ и $^{208}\text{Pb}/^{232}\text{Th}$. Во всех изученных ОС апатита наблюдаются флуктуации аналитических сигналов во времени, обусловленные элементным фракционированием. При этом форма сигнала существенно меняется от образца к образцу: для апатита Mun Mad стационарное (закономерно и слабо меняющееся во времени) значение интенсивности устанавливается, как правило, в течение 9–12 с после начала абляции; для ОС Durango

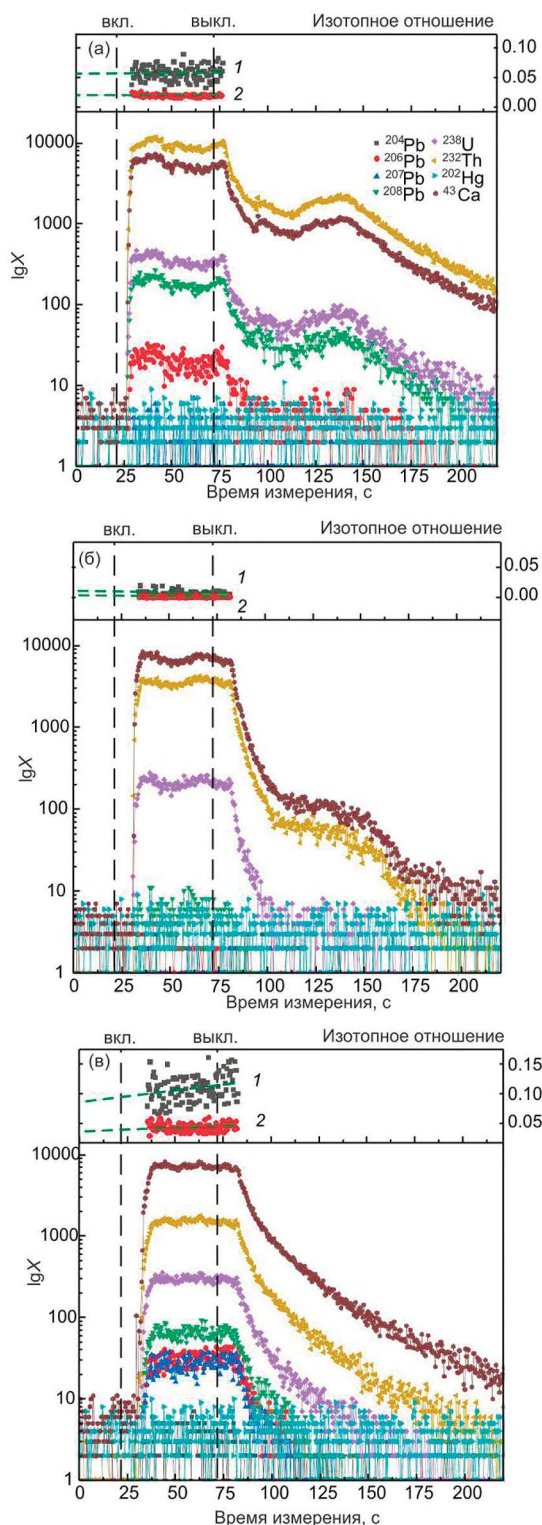


Рис. 3. Типичные временные зависимости сигналов (имп/с) от изотопов элементов Pb, U, Th, Ca, Hg и значения отношений $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ (1), $^{208}\text{Pb}/^{232}\text{Th}$ (2) в образцах сравнения апатита Mun Mad (а), Durango (б), Mud Tank (в). Черные вертикальные пунктиры – моменты включения и выключения лазера; зеленые пунктиры – схематичное изображение аппроксимации временных зависимостей изотопных отношений и расчета точки пересечения линии регрессии с осью ординат.

и Mud Tank – в течение 15–18 и 18–20 с соответственно. Время удаления испарившейся пробы из ячейки абляции после выключения лазера для ОС апатита составляет порядка 180 с. Следует отметить, что время установления стационарного сигнала и удаления испаренной пробы из ячейки определяется не только свойствами образца: на него влияет также длина соединительной трубки масс-спектрометра и ЛА-приставки (в настоящей работе она составляла ~1.5 м).

Обработка экспериментальных данных и расчет возраста образцов сравнения апатита. Сигналы изотопов измеряли методом “взятия в вилку” при следующей последовательности измерения: ОС апатита Mun Mad₁, Durango₁, Durango₂, Durango₃, Mun Mad₂, MudTank₁, MudTank₂, MudTank₃, Mun Mad₃ (здесь подстрочные индексы обозначают номер кратера при измерении). Сигнал контрольного образца (фоновый сигнал) измеряли для каждого кратера перед абляцией образца.

В работе использовали следующую схему обработки экспериментальных данных:

расчет изотопных отношений $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$, $^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$, $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$, $^{208}\text{Pb}/^{232}\text{Th}$ в программе GLITTER V.4.4, включающий процедуру выбора ОС апатита; проверку на элементное фракционирование при загрузке данных в программу (последнее не должно превышать 5%); выбор типа интерполяции результатов по ОС для корректировки инструментального дрейфа (в данной работе использовали функцию Linear fit); проверку на наличие выбросов;

выбор интервалов для расчета фонового и полезного сигналов;

расчет в программе IsoplotR [33] значений возраста апатита при корректировке на присутствие Pb_{com} ;

построение конкордии в программе Excel с встроенным пакетом Isoplot (версия 4.15) или в программе IsoplotR.

Возраст ОС апатита рассчитывали по значениям изотопных отношений $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ и $^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$, полученным при оптимизированных операционных параметрах оборудования после внесения корректировок на дрейф прибора, фракционирование элементов и присутствие Pb_{com} . Ниже ЛА-МС-ИСП-методика измерения U-Pb-изотопного состава и датирования апатита условно обозначена как $M_{\text{изот}}$. На рис. 4 представлены диаграммы конкордии $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ по отношению к $^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$ для ОС апатита с корректировкой по модели [20]; в ОС апатита Mun Mad содержание Pb_{com} пренебрежимо мало, вследствие чего данные представлены без корректировки на Pb_{com} . Наши данные для ОС апатита удовлетворительно согласуются с литературными (табл. 1, 2).

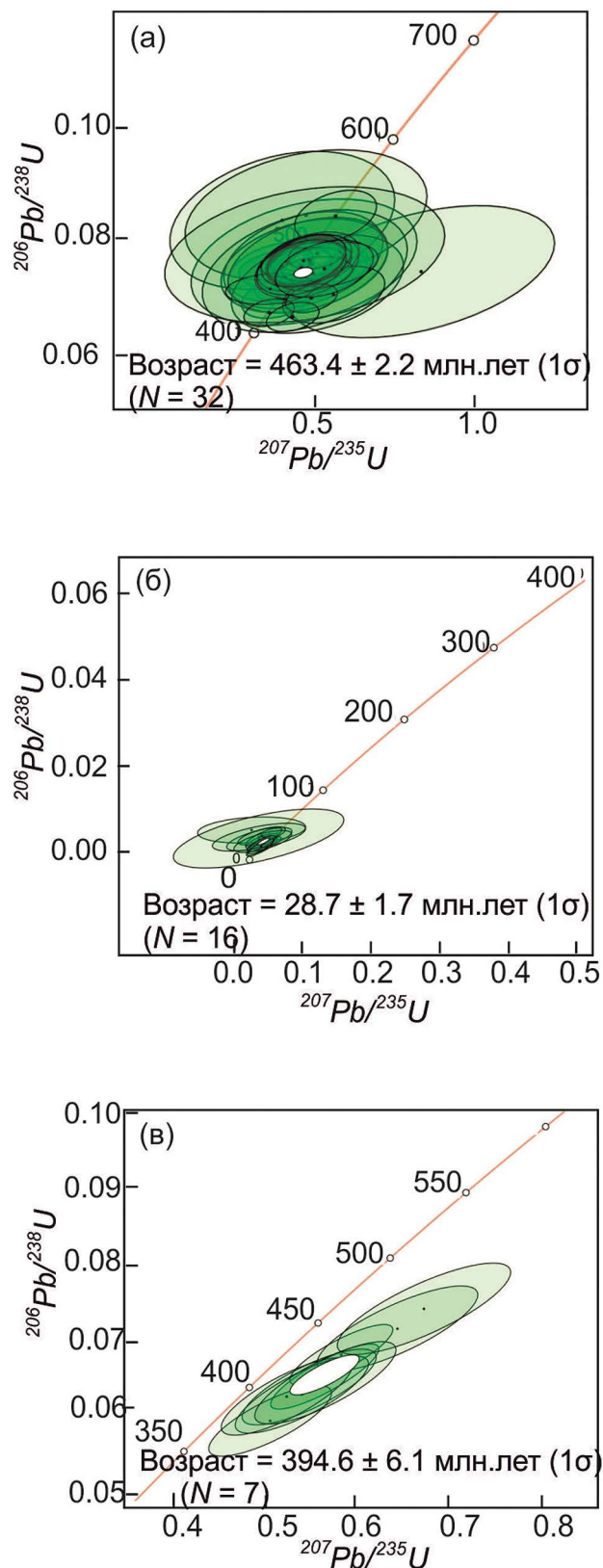


Рис. 4. Диаграмма $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ по отношению к $^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$ с конкордией для образцов сравнения апатита Mun Mad (а), Durango (б) и Mud Tank (в) с корректировкой по модели Стейси – Крамерс. Белые эллипсы – средневзвешенные значения; N – число измерений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Микроэлементный состав и неоднородность зерен образцов сравнения апатита. В табл. 3 представлены типичные ЛА-МС-ИСП-данные по содержанию РЗЭ и ряда рассеянных элементов для серии аналитических точек в зернах ОС апатита. Фиксируются значимые колебания содержаний как между зернами, так и внутри зерен. Известно, что для зерен эндогенного апатита типично наличие внутренней текстуры и химической зональности. При этом к зернам природного апатита, которые используются в качестве ОС при ЛА-МС-ИСП-анализе, предъявляются достаточно высокие требования по однородности. Заметим, что анализ однородности зерен использованных нами ОС Mun Mad, Durango, Mud Tank ранее проводился лишь по небольшому числу микроэлементов [15, 17, 26–28]. В качестве количественного критерия гомогенности микропримесного состава зерен нами использован относительный параметр (относительное стандартное отклонение, s_r) согласно соотношению $s_r = s/x \times 100\%$, где s – стандартное отклонение выборки, x – выборочное среднее. Показано, что микропримесный состав существенно варьирует. Полученные нами ЛА-МС-ИСП-данные по ОС апатитов (табл. 3, 4, рис. 5) свидетельствуют о том, что относительная неоднородность распределения РЗЭ, Sr, U и Th по зернам ОС Mun Mad, Durango и Mud Tank составляет 11–29, 5–10 и 0.3–6% соответственно. По ряду других микроэлементов зерна ОС апатита еще более значимо неоднородны (табл. 2). Зерна апатита Mun Mad обладают значительной неоднородностью по химическому составу, поэтому вопрос об их использовании в качестве ОС при микроэлементном ЛА-МС-ИСП-определении достаточно неоднозначен. Зерна апатита Durango можно использовать в качестве ОС при микроэлементном определении Na, Mn, Sr, Y, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Th и U; зерна апатита Mud Tank – Na, V, Mn, Fe, Sr, Y, Mo, Ag, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Pb, Th и U.

Одновременное определение из одного кратера микроэлементного и изотопного состава апатита. Наличие внутренней текстуры у зерен апатита обуславливает актуальность выполнения методических работ по одновременному определению из одного кратера микроэлементного и U-Pb-изотопного состава апатита. Подобные работы известны и основаны на использовании эксимерного лазера с длиной волны излучения 193 нм (см., например, [34, 35]). Отметим, что анализ из одного кратера обеспечивает более корректную изотопно-геохимическую информацию: данные микроэлементного состава открывают возможность для интерпретации соответствующих U-Pb-возрастных данных.

Таблица 2. Значения изотопных отношений $^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$, $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ и возраста (млн. лет) в отдельных аналитических точках на зернах образцов сравнения апатита Mun Mad, Durango и Mud Tank по ЛА-МС-ИСП-данным.

Точка	Изотопные отношения				Возраст								
	$^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}^*$	1 σ	$^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$	1 σ	$^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}^{**}$	1 σ	$^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}^{**}$	1 σ	T_{conc}	1 σ	$M_{\text{изот}}$	$M_{\text{элемент-изот}}$	$M_{\text{общ}}$
Mun Mad													
1	0.580	0.038	0.076	0.002	465	24	472	11	472	11	$472.6 \pm 2.7,$ $N = 32$	$474.1 \pm 5.1,$ $N = 15$	472.9 ± 2.4
2	0.595	0.048	0.076	0.002	474	30	470	13	470	13			
3	0.602	0.042	0.076	0.002	478	26	473	11	474	11			
4	0.598	0.063	0.076	0.003	476	40	475	17	475	17			
5	0.602	0.076	0.076	0.003	479	48	473	19	473	18			
Durango													
1	0.191	0.040	0.006	0.001	25	6	29	4	29	4	$28.7 \pm 1.8,$ $N = 16$	$25.8 \pm 2.9,$ $N = 8$	27.9 ± 1.5
2	0.202	0.039	0.005	0.001	17	4	20	3	20	3			
3	0.188	0.049	0.006	0.001	21	8	25	5	25	5			
4	0.187	0.072	0.006	0.001	24	13	28	7	28	7			
5	0.196	0.061	0.006	0.001	22	10	25	7	25	6			
Mud Tank													
1	7.736	0.262	0.148	0.003	689	52	476	26	339	12	$387.2 \pm 12.3,$ $N = 7$	$372.6 \pm 6.6,$ $N = 6$	379.8 ± 4.7
2	7.664	0.260	0.148	0.003	677	52	478	27	347	13			
3	7.694	0.260	0.148	0.003	680	52	477	27	343	13			
4	8.122	0.592	0.147	0.004	185	13	259	10	243	9			
5	8.253	0.658	0.147	0.005	234	18	305	13	292	12			

*Без корректировки на Pb_{com} ; **после корректировки на Pb_{com} ; T_{conc} – возраст по конкордии; $M_{\text{общ}}$ – по всем результатам, полученным по методикам $M_{\text{изот}}$ и $M_{\text{элемент-изот}}$

Таблица 3. Минимальное и максимальное значения содержания микроэлементов ($c_{\text{мин}}$ и $c_{\text{макс}}$, ppm) и предел обнаружения (ПО) в образцах сравнения апатита согласно ЛА-МС-ИСП-данным

Элемент	Mun Mad ($N = 5$)			Durango ($N = 10$)			Mud Tank ($N = 5$)		
	$c_{\text{мин}}$	$c_{\text{макс}}$	ПО	$c_{\text{мин}}$	$c_{\text{макс}}$	ПО	$c_{\text{мин}}$	$c_{\text{макс}}$	ПО
Li	н/о	н/о	0.4	1.05	3.81	0.01	0.07	0.1	0.01
Be	0.9	0.9	0.01	0.19	4.56	0.01	0.21	0.4	0.01
B	20	20	3	4.37	8.92	0.01	1.2	4.7	0.01
Na	313	376	5.5	1779	2166	0.6	2150	2185	0.7
Mg	21	30	0.01	152	227	0.01	301.5	404	0.01
Al	н/о	н/о	4	н/о	н/о	1	н/о	н/о	2
Si	4391	6412	590	1353	2386	222	862	1153	279
Sc	н/о	н/о	0.9	0.52	0.52	0.4	0.97	1.54	0.6
Ti	2.9	3.8	0.01	1.1	4.0	0.01	0.49	1.24	0.01
V	32	37	0.4	24	34	0.01	4.2	5	0.01
Cr	80	80	27	5.12	7.41	4	5.9	8.2	5
Mn	185	208	2.1	90	97	0.8	239	255	0.9
Fe	53	65	28	318	460	24	906	1067	40
Co	н/о	н/о	0.4	0.101	0.137	0.01	0.19	0.19	0.01

Элемент	Mun Mad ($N = 5$)			Durango ($N = 10$)			Mud Tank ($N = 5$)		
	$c_{\text{мин}}$	$c_{\text{макс}}$	ПО	$c_{\text{мин}}$	$c_{\text{макс}}$	ПО	$c_{\text{мин}}$	$c_{\text{макс}}$	ПО
Ni	1.1	1.1	0.01	0.28	1.4	0.01	0.22	0.57	0.01
Cu	н/о	н/о	3.9	0.51	0.51	0.01	1.3	1.3	0.01
Zn	2.0	2.0	0.01	3.17	3.17	3.6	н/о	н/о	12.4
Ga	29	40	0.01	15	35	0.01	17.52	19	0.01
Ge	4.0	4.2	2.7	1.1	6.6	0.9	2.5	2.7	0.01
As	12	26	6	641	951	0.01	3.8	8	0.01
Rb	н/о	н/о	0.6	0.04	0.1	0.01	0.04	0.09	0.01
Sr	1727	1882	0.5	438	486	0.01	3333	3458	0.01
Y	296	397	0.2	413	540	0.01	223	236	0.01
Zr	7.9	29	0.4	0.52	1.2	0.01	0.91	19	0.01
Nb	0.15	0.58	0.01	0.02	0.10	0.01	0.3	0.7	0.01
Mo	0.57	1.2	0.01	0.09	0.58	0.01	0.08	0.1	0.01
Ag	0.25	0.26	0.01	0.05	0.96	0.01	0.05	0.05	0.01
Cd	0.1	0.28	0.01	0.08	0.3	0.01	0.16	0.22	0.01
In	0.02	0.02	0.01	0.02	0.16	0.01	0.01	0.02	0.01
Sn	0.7	0.7	0.5	0.5	0.5	0.4	н/о	н/о	0.5
Sb	0.3	0.3	0.01	0.06	0.57	0.01	н/о	н/о	0.01
Cs	0.01	0.04	0.01	0.04	0.13	0.01	0.006	0.006	0.01
Ba	0.5	0.8	0.01	0.83	1.91	0.01	46.55	59	0.01
La	1345	2241	0.01	3015	3471	0.01	1675	1685	0.01
Ce	2888	4223	0.01	3553	4041	0.01	3217	3254	0.01
Pr	348	494	0.01	301	357	0.01	389	393	0.01
Nd	1289	1766	0.01	953	1150	0.01	1439	1479	0.01
Sm	172	225	0.01	117	138	0.01	210.3	217	0.01
Eu	23	32	0.01	14	17	0.01	55.5	57	0.01
Gd	102	162	0.01	100	123	0.01	140	147	0.01
Tb	12	16	0.01	12	15	0.01	14.9	15	0.01
Dy	58	77	0.01	67	85	0.01	64.4	68	0.01
Ho	9.7	14	0.01	13	17	0.01	9.1	10	0.01
Er	25	34	0.01	35	45	0.01	18.2	20	0.01
Tm	2.8	3.7	0.01	4.29	5.6	0.01	1.8	2.1	0.01
Yb	15	21	0.01	25	31	0.01	8.6	10	0.01
Lu	2.2	3.7	0.01	3.4	4.5	0.01	1.0	1.1	0.01
Hf	0.05	0.14	0.01	0.01	0.02	0.01	н/о	н/о	0.01
Ta	0.02	0.03	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01
W	0.07	0.11	0.01	0.03	0.03	0.01	0.03	0.10	0.01
Tl	0.25	0.25	0.01	0.02	0.17	0.01	0.04	0.04	0.01
²⁰⁸ Pb	4.1	10	0.01	0.092	0.54	0.01	5.5	6	0.01
Bi	0.20	0.51	0.01	0.02	0.17	0.01	0.03	0.1	0.01
Th	583	862	0.01	172	226	0.01	65	67	0.01
U	18	33	0.01	7.6	9.9	0.01	10	11.37	0.01
Th/U	25	33		19	25		6	7	

Примечание: N – количество измерений; н/о – не обнаружено.

Таблица 4. Значение относительной неоднородности (s_r , %) зерен образцов сравнения апатита Mun Mad, Durango и Mud Tank по содержанию примесных микроэлементов (ЛА-МС-ИСП-данные)

s_r	ОС, примесный элемент*		
	Durango ($N^{**} = 5$; $M^{***} = 49$)	Mud Tank ($N = 10$; $M = 46$)	Mun Mad ($N = 5$; $M = 40$)
>60	Be, Ni, Ge, Mo, Rb, Ag, In, Sb, Cs, Ta, Tl, Bi	B, Zr	Cs
30–60	Li, Ti, Ga, Zr, Nb, Cd, Pb	Li, Be, Sc, Ti, Ni, Rb, Nb, In, Ta, W, Bi	As, Zr, Nb, Mo, Cd, Pb, Bi, Hf
10–30	B, Mg, Si, V, Cr, Fe, Co, As, Ba, Er, Tm, Hf	Mg, Si, Cr, As, Cd	Mg, Si, Ti, Fe, Ga, Y, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Ta, W, Th, U
<10	Na, Mn, Sr, Y, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, , Yb, Lu, Th, U	Na, V, Mn, Fe, Ga, Ge, Sr, Y, Mo, Ag, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Pb, Th, U	Na, V, Mn, Ge, Sr, Ag

*В пробе Durango не обнаружены (обнаружены однократно) элементы Al, Sc, Cu, Zn, Sn, W; в Mud Tank – Al, Co, Cu, Zn, Sn, Sb, Cs, Hf, Tl; в Mun Mad –Li, Be, B, Al, Sc, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, Rb, In, Sn, Sb, Tl; **количество измерений; ***общее число определенных элементов в пробе.

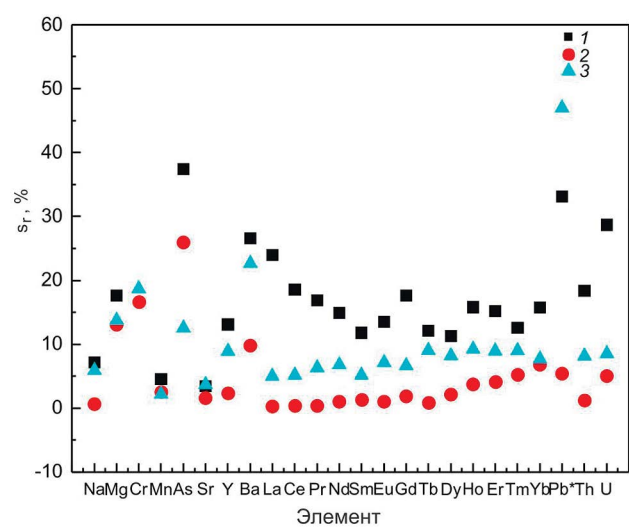


Рис. 5. Неоднородность распределения относительного стандартного отклонения (%) содержания микроэлементов в образцах сравнения апатита Mun Mad (1), Mud Tank (2) и Durango (3).

Для зерен апатита малого размера со сложной внутренней текстурой последовательный анализ из двух кратеров затруднен, а в ряде случаев просто невозможен из-за малых размеров зон, зачастую близких к размеру пятна лазера. Представляется, что актуальность разработки методик определения микроэлементного и U-Pb-изотопного состава апатита из одного кратера для получения достоверных значений возраста и состава минерала сохраняется и сегодня.

При оптимальных операционных параметрах масс-спектрометра и ЛА-приставки, указанных выше, нами измерены сигналы изотопов ^{29}Si , ^{43}Ca , ^{85}Rb , ^{88}Sr , ^{139}La , ^{140}Ce , ^{141}Pr , ^{146}Nd ,

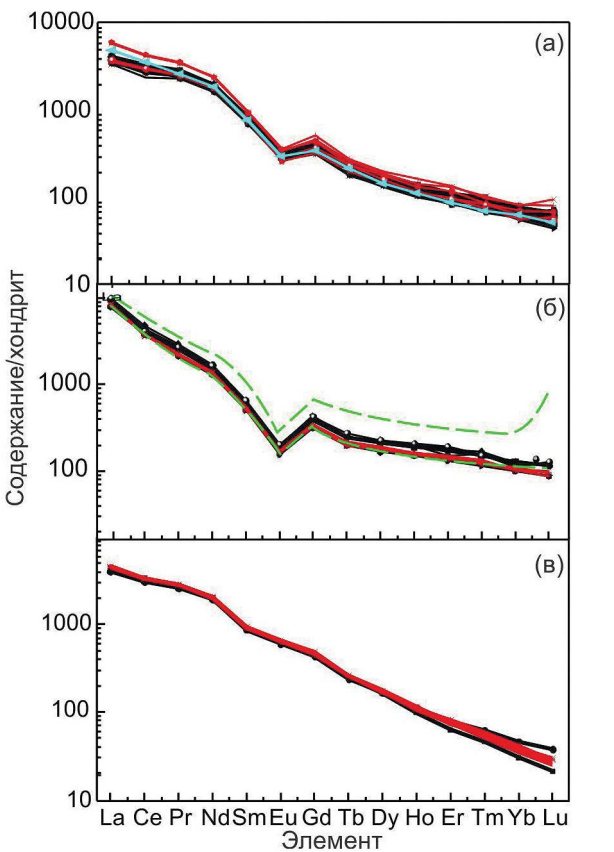


Рис. 6. Распределение РЗЭ, нормированное на хондритовый резервуар C1 [36], в образцах сравнения апатита Mun Mad (а), Durango (б), Mud Tank (в). Красные линии – по данным методики микроэлементного анализа $M_{\text{элемент}}$; черные – по совмещенной методике $M_{\text{элемент-изотоп}}$; зеленые – граничные значения содержание/хондрит для образца сравнения апатита Durango согласно базы данных GeoREM; синие – значения содержание/хондрит для образца сравнения апатита Mun Mad согласно данным [27].

^{147}Sm , ^{153}Eu , ^{157}Gd , ^{159}Tb , ^{163}Dy , ^{165}Ho , ^{167}Er , ^{169}Tm , ^{173}Yb , ^{175}Lu , ^{180}Hf (длительность измерения $\tau = 10$ мс); ^{202}Hg , ^{204}Pb , ^{207}Pb ($\tau = 30$ мс); ^{206}Pb , ^{208}Pb , ^{232}Th , ^{238}U ($\tau = 20$ мс) при количестве циклов сканирования, равном 2, и количестве реплик 350. В этих условиях время измерения одной реплики составляет 721 мс, а общее время измерения – 252 с; время работы лазера – 50 с. Для определения содержания микроэлементов в протокол анализа включили стандартные стекла NIST SRM 610 и 612. Содержание рассчитывали по внутреннему стандарту – содержанию CaO в ОС апатита и SiO_2 в стеклах; расчет возраста – по процедуре, представленной выше. Методика ЛА-МС-ИСП-анализа одновременного определения микроэлементного и изотопного состава апатита в одном кратере условно обозначена как “совмещенная” или $M_{\text{элемент-изот}}$.

В табл. 2 представлены значения возраста апатита по конкордии, полученные при измерении U-Pb-изотопного состава по методикам $M_{\text{изот}}$ и $M_{\text{элемент-изот}}$. Видно, что значения возраста удовлетворительно согласуются между собой. Отмечено также, что результаты определения содержания РЗЭ по методике $M_{\text{элемент-изот}}$ близки к содержаниям, полученным по $M_{\text{элемент}}$; коэффициенты детерминации R^2 составляют 0.9974, 0.9998, 0.9996 для Mun Mad, Durango и Mud Tank соответственно (рис. 6, 7). Таким образом, показана возможность одновременного определения содержания РЗЭ, Rb, Sr и Hf и U-Pb-датирования зерен апатита при размере пятна лазера более 50 мкм.

Апробация методик. Описанные методики использовали для определения микроэлементного состава и изотопных отношений $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$, $^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$, $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$, $^{208}\text{Pb}/^{232}\text{Th}$ в зернах апатита KUCH из мраморов Кучинского карьера (Кочкарский антиклинорий, Южный Урал) и NAL из мраморов Нижнеалабашского лога

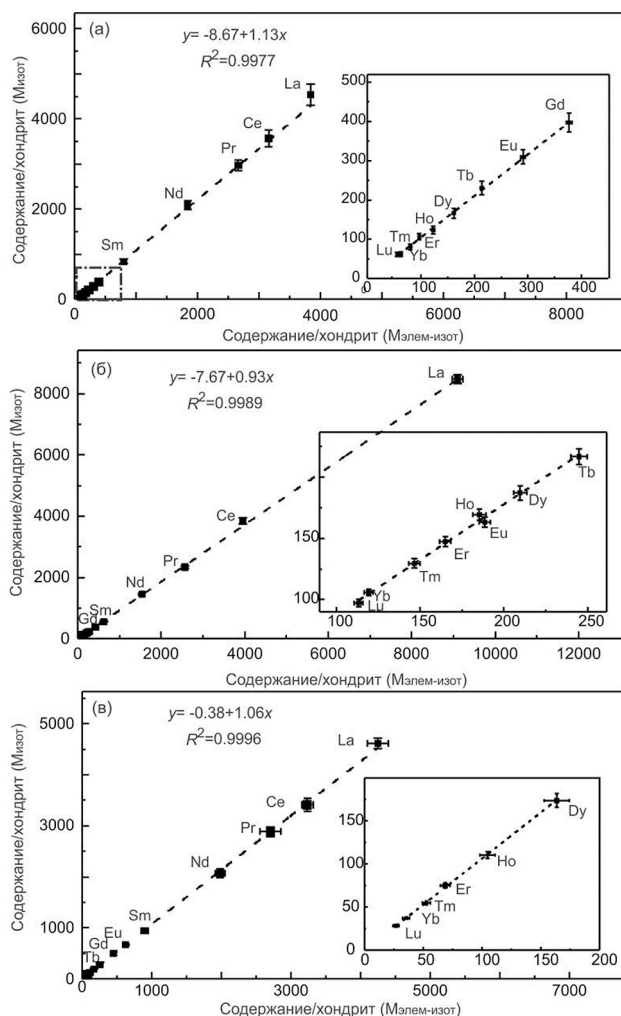


Рис. 7. Содержания РЗЭ, нормированные на хондритовый резервуар C1, в образцах сравнения апатита Mun Mad (а), Durango (б), Mud Tank (в), полученные по методике микроэлементного анализа $M_{\text{элемент}}$ и по совмещенной методике $M_{\text{элемент-изот}}$. Погрешность – 1σ ; вставки – области низких содержаний РЗЭ.

Таблица 5. Значения изотопных отношений $^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$, $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ и возраста (млн. лет) в отдельных аналитических точках на зернах апатита KUCH из мраморов Кучинского карьера (Кочкарский антиклинорий, Южный Урал) и NAL из мраморов Нижнеалабашского лога (Мурзинский массив, Средний Урал)

Точка	Изотопные отношения				Возраст					
	$^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}^*$	1σ	$^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}^*$	1σ	$^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}^{**}$	1σ	$^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}^{**}$	1σ	T_{conc}	1σ
NAL										
1	1.58	0.06	0.0554	0.0011	106	5	191	5	155	4
2	3.25	0.13	0.0770	0.0016	115	6	183	5	150	5
3	2.36	0.10	0.0661	0.0014	114	6	190	5	154	5
4	1.46	0.06	0.0536	0.0010	105	5	191	4	157	4
5	1.40	0.06	0.0547	0.0010	104	5	198	4	157	4
6	1.46	0.06	0.0543	0.0010	104	5	193	4	156	4
7	0.47	0.02	0.0434	0.0007	105	5	227	4	192	4

Точка	Изотопные отношения				Возраст					
	$^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}^*$	1σ	$^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}^*$	1σ	$^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}^{**}$	1σ	$^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}^{**}$	1σ	T_{conc}	1σ
8	0.44	0.02	0.0425	0.0007	107	5	226	4	197	4
9	0.44	0.02	0.0427	0.0007	107	5	228	4	198	4
10	1.93	0.07	0.0570	0.0009	83	4	156	3	120	3
11	2.23	0.08	0.0623	0.0010	85	4	159	4	122	3
12	2.20	0.08	0.0614	0.0010	84	4	156	4	118	3
KUCH										
1	0.37	0.06	0.0397	0.0018	317	44	251	11	250	11
2	0.31	0.07	0.0440	0.0016	276	56	278	10	278	10
3	0.37	0.10	0.0479	0.0019	317	73	302	12	302	12
4	0.37	0.06	0.0447	0.0013	323	43	282	8	282	8
5	0.43	0.04	0.0443	0.0015	366	29	280	9	278	9
6	0.45	0.05	0.0482	0.0014	376	33	304	8	303	8
7	0.37	0.03	0.0450	0.0019	316	24	284	11	284	12
8	0.35	0.04	0.0480	0.0015	306	29	302	9	302	9
9	0.32	0.04	0.0441	0.0022	280	34	278	14	278	14
10	0.32	0.06	0.0433	0.0014	285	45	274	9	274	9
11	0.30	0.06	0.0435	0.0015	270	48	274	9	274	9
12	0.30	0.05	0.0430	0.0015	268	38	272	9	272	9

*Без корректировки на Pb_{com} ; **после корректировки на Pb_{com} ; T_{conc} — возраст по конкордии.

(Мурзинский массив, Средний Урал). Установили, что в образцах NAL и KUCH вариации содержания U, Th и Pb составляют 31–264, 11.5–147 и 3.0–20.3 ppm и 9.2–17.5, 3.6–7.0 и 0.2–11.6 ppm соответственно. Полученные экспериментальные изотопные данные использовали при геохронологических построениях: в табл. 5 представлены типичные значения изотопных отношений $^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$, $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ и возраста в отдельных аналитических точках на зернах апатита KUCH и NAL. Возрастные данные удовлетворительно согласуются с геологическими представлениями об исследованных объектах.

* * *

Описаны реализация методик ЛА-МС-ИСП-определения микроэлементного состава и изотопных отношений Pb/U, Pb/Th и Pb/Pb в апатите на квадрупольном масс-спектрометре NexION 300S с приставкой NWR 213, процедура обработки экспериментальных данных, а также результаты U-Pb-датирования ОС и ряда проб апатита из уральских объектов. Методики анализа включали (1) определение содержания РЗЭ, Rb, Sr, Hf, U, Pb, Th; (2) измерение изотопных отношений $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$, $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$, $^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$, $^{208}\text{Pb}/^{232}\text{Th}$, в том числе

из одного кратера; (3) введение поправок на холстой опыт, фракционирование элементов и содержание Pb_{com} и расчет U-Pb-возраста апатита.

Определены оптимальные операционные параметры масс-спектрометра (расходы плазмообразующего, вспомогательного и пробподающего потоков аргона, мощность высокочастотного генератора, время пребывания на массе) и ЛА-приставки (поток транспортирующего газа гелия, плотность энергии лазерного излучения, частота повторения импульсов, размер пятна лазера), обеспечивающие минимальное элементное фракционирование и минимальные погрешности, в том числе при определении микроэлементного состава и изотопных отношений из одного кратера размером 50 мкм и более.

При определении содержания микропримесей использованы стандартные синтетические стекла NIST SRM-612, -610; при измерении изотопных отношений — ОС апатита Durango, Mun Mad и Mud Tank, проанализированные в разных лабораториях с использованием различных методик и оборудования.

По данным сканирующей электронной микроскопии проанализирована форма кратеров лазерной абляции в зернах ОС апатита;

показана значимая неоднородность зерен по содержанию матричных и примесных элементов.

Получены метрологические характеристики методик за период измерения 2021–2023 гг.: повторяемость измерения изотопных отношений $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ и $^{208}\text{Pb}/^{232}\text{Th}$ составляет 0.54 и 0.72, 7.5 и 14.3, 1.5 и 4.4% для Mun Mad, Durango, Mud Tank соответственно; неопределенность единичного определения изотопных отношений $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ и $^{208}\text{Pb}/^{232}\text{Th}$ (1σ) составляет 2.2–10 и 1.6–4.0, 10–41 и 4.2–17, 2.4–5.3 и 2.7–4.1% для Mun Mad, Durango, Mud Tank соответственно. Вариации содержания РЗЭ в образцах сравнения (s) составляют 11–24, 5–13, 0.3–7% для Mun Mad, Durango, Mud Tank соответственно.

Датировки ОС апатита в пределах неопределенности соответствуют таковым, полученным в разных лабораториях: значения возраста апатита Mun Mad, Durango, Mud Tank составляют 472.9 ± 2.4 ($N=47$), 27.9 ± 1.5 ($N=24$), 379.8 ± 4.7 млн. лет ($N=13$) соответственно.

Методики опробованы на пробах апатита из уральских объектов, в том числе с определением микроэлементного состава и изотопных отношений из одного кратера.

Авторы признательны Чебыкину Н.С., Булатову В.А. и Давлетшиной А.А. за выполнение исследований на сканирующем электронном микроскопе и микрозонде, Кисину А.Ю. за любезное предоставление проб апатита. Авторы выражают благодарность рецензенту за конструктивные замечания, которые способствовали улучшению рукописи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в Центре коллективного пользования Уральского отделения Российской академии наук “Геоаналитик”; исследование внутрилабораторных образцов сравнения — в рамках темы №123011800012-9 государственного задания Института геологии и геохимии им. академика А.Н. Заварицкого Уральского отделения Российской академии наук.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pan Y.M., Fleet M.E. Compositions of the apatite-group minerals: Substitution mechanisms and controlling factors / *Phosphates: Geochemical, Geobiological, and Materials Importance. Reviews in Mineralogy & Geochemistry*. 2002. V. 48. P. 13.
2. Poitrasson F., Hanchar J.M., Schaltegger U. The current state and future of accessory mineral research // *Chem. Geol.* 2002. V. 191. P. 3.
3. Belousova E.A., Griffin W.L., O'Reilly S., Fisher N.I. Apatite as an indicator mineral for mineral exploration: Trace-element compositions and their relationship to host rock type // *J. Geochem. Explor.* 2002. V. 76. P. 45.
4. Chu M.F., Wang K.L., Griffin W.L., Chung S.L., O'Reilly S.Y., Pearson N.J., Lizuka Y. Apatite composition: Tracing petrogenetic processes in Transhimalayan granitoids // *J. Petrol.*, 2009. V. 50. P. 1829.
5. Spear F.S., Pyle J.M. Apatite, monazite, and xenotime in metamorphic rocks / *Phosphates: Geochemical, Geobiological, and Materials Importance. Reviews in Mineralogy & Geochemistry*. 2002. V. 48. P. 293.
6. Kohn M.J., Penniston-Dorland S. Diffusion: Obstacles and opportunities in petrochronology // *Rev. Mineral. Geochem.* 2018. V. 83. № 1. P. 103.
7. Engi M., Lanari P., Kohn M.J. Significant ages. An introduction to petrochronology // *Rev. Mineral. Geochem.* 2017. V. 83. № 1. P. 1.
8. Kylander-Clark A.R.C. Petrochronology by laser-ablation inductively coupled plasma mass spectrometry // *Rev. Mineral. Geochem.* 2017. V. 83. № 1. P. 183.
9. Liu Y.-Sh., Hu Z.Ch., Li M., Gao Sh. Applications of LA-ICP-MS in the elemental analyses of geological samples // *Chin. Sci. Bull.* 2013. V. 58. № 32. P. 3863.
10. Black L.P., Kamo S.L., Allen Ch. L., Davis D.W., Aleinikoff J.N., Valley J.W., Mundif R., Campbell I.H., Korsch R.J., Williams I.S., Foudoulis Ch. Improved $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ microprobe geochronology by the monitoring of a trace- element-related matrix effect; SHRIMP, ID-TIMS, ELA-ICP-MS and oxygen isotope documentation for a series of zircon standards // *Chem. Geol.* 2004. V. 205. № 1-2. P. 115.
11. Jackson S. Calibration strategies for elemental by LA-ICP-MS / *Laser Ablation-ICP-MS in the Earth Sciences*. 2008. V. 40. P. 169.
12. Hager J.W. Elemental analysis of solids using laser-sampling inductively coupled plasma-mass spectrometry / *Optical Spectroscopic Instrumentation and Techniques for the 1990s: Applications in Astronomy, Chemistry, and Physics*. 1990. № 1318. P. 166.
13. Jackson S.E. The application of laser- ablation microprobe inductively coupled plasma-mass spectrometry (LAM-ICP-MS) to in situ trace-element determinations in minerals // *Can. Mineral.* 1992. V. 30. № 4. P. 1049.
14. Oosthuyzen E.J., Burger A.J. The suitability of apatite as an age indicator by the uranium-lead isotope method // *Earth Planet. Sci. Lett.* 1973. V. 18. P. 29.
15. Chew D.M., Sylvester P.J., Tubrett M.N. U–Pb and Th–Pb dating of apatite by LA- ICPMS // *Chem. Geol.* 2011. V. 280. P. 200.

16. Pochon A., Poujol M., Gloaguen E., Branquet Y., Cagnard F., Gumiaux Ch., Gapais D. U-Pb LA-ICP-MS dating of apatite in mafic rocks: Evidence for a major magmatic event at the Devonian-Carboniferous boundary in the Armorican Massif (France) // *Am. Mineral.* 2016. V. 101. P. 2430.
17. Thomson S.N., Gehrels G.E., Ruiz J., Buchwaldt R. Routine low-damage apatite U-Pb dating using laser ablation-multicollector-ICPMS // *Geochim. Geophys. Geosyst.* 2012. V. 13. Q0AA21.
18. Ризванова Н.Г., Скублов С.Г., Черемазова Е.В. Возраст гидротермальных процессов в центрально-иберийской зоне (Испания) по данным U-Pb датирования касситерита и апатита // *Записки Горного института. Геология.* 2017. Т. 225. С. 275. (Rizvanova N.G., Skublov S.G., Cheremazova E.V. Age of hydrothermal processes in the central iberian zone (Spain) according to U-Pb dating of cassiterite and apatite // *J. Mining Inst.* 2017. V. 225. P. 275.)
19. Kosler J., Fonneland H., Sylvester P., Tubrett M., Pedersen R.B. U-Pb dating of detrital zircons for sediment provenance studies – A comparison of LA-ICPMS and SIMS techniques // *Chem. Geol.* 2002 V. 182. №. 2-4. P. 605.
20. Stacey J.S., Kramers J.D. Approximation of terrestrial lead isotope evolution by a two-stage model // *Earth Planet. Sci. Lett.* 1975. V. 26. №. 2. P. 207.
21. Tera F., Wasserburg G.J. U-Th-Pb systematics in three Apollo 14 basalts and the problem of initial lead in lunar rocks // *Earth Planet. Sci. Lett.* 1972. V. 14. P. 281.
22. Jochum K.P., Stoll B. Reference materials for elemental and isotopic analysis / *Mineralogical Association of Canada*, 2008. V. 40. P. 147.
23. Pearce N.J.G., Perkins W.T., Westgate J.A., Gorton M.P., Jackson S.E., Neal C.R., Chenery S.P. A compilation of new and published major and trace element data for NIST SRM 610 and NIST SRM 612 glass reference materials // *Geostand. Newsl.* 1997. V. 21. P. 115.
24. McDowell F.W., McIntosh W.C., Farley K.A. A precise ^{40}Ar – ^{39}Ar reference age for the Durango apatite (U–Th)/He and fission-track dating standard // *Chem. Geol.* 2005. V. 214. P. 249.
25. Cochrane R., Spikings R.A., Chew D., Wotzlaw J.-F., Chiaradia M., Tyrrell S., Schaltegger U., Van der Lelij R. High temperature (>350 °C) thermochronology and mechanisms of Pb loss in apatite // *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2014. V. 127. P. 39.
26. Chew D.M., Petrus J.A., Kamber B.S. U–Pb LA-MC-ICP-MS dating using accessory mineral standards with variable common Pb // *Chem. Geol.* 2014. V. 363. P. 185.
27. Yang Y.-H., Wu F.-Y., Yang J.-H., Chew D.M., Xie L.-W., Chu Zh.-Y., Zhang Y.-B., Huang Ch. Sr and Nd isotopic compositions of apatite reference materials used in U-Th-Pb geochronology // *Chem. Geol.* 2014. V. 385. P. 35.
28. Sun Y., Wiedenbeck M., Joachimski M.M., Beier C., Kemner F., Weinzierl C. Chemical and oxygen isotope composition of gem-quality apatites: Implications for oxygen isotope reference materials for secondary ion mass spectrometry (SIMS) // *Chem. Geol.* 2016. V. 440. P. 164.
29. Ryan C.G., Griffin W.L. GLITTER User's manual. p.72.
30. Norman M.D., Pearson N.J., Sharma A.L., Griffin W.L. Quantitative analysis of trace elements in geological materials by laser ablation ICPMS: instrumental operating conditions and calibration values of NIST glasses // *Geostand. Newsl.* 1996. V. 20. P. 247.
31. Kooijman E., Berndt J., Mezger K. U-Pb dating of zircon by laser ablation ICP-MS: recent improvements and new insights // *Eur. J. Mineral.* 2012. V. 24. P. 5.
32. <https://www.originlab.com/origin#Introduction> (дата обращения 20.02.2024).
33. Vermeesch P. IsoplotR: A free and open toolbox for geochronology // *Geosci. Front.* 2018. V. 9. P. 1479.
34. Gawęda A., Szopa K., Chew D. LA-ICP-MS U-Pb dating and ree patterns of apatite from the Tatra mountains, Poland as a monitor of the regional tectonomagmatic activity // *Geochronometria.* 2014. V. 41. № 4. P. 306.
35. Apen F.E., Wall C.J., Cottle J.M., Schmitz M.D., Kylander-Clark A.R. C., Seward G.G. E. Apatites for destruction: Reference apatites from Morocco and Brazil for U-Pb petrochronology and Nd and Sr isotope geochemistry // *Chem. Geol.* 2022. V. 590. № 120689. P. 1.
36. Taylor S.R., McLennan S.M. *The Continental Crust: Its Composition and Evolution.* Oxford: Blackwell, 1985. 312 p.

DETERMINATION OF TRACE ELEMENT COMPOSITION AND U-Pb DATING OF APATITE BY INDUCTIVELY COUPLED PLASMA MASS SPECTROMETRY AND LASER ABLATION ON NexION 300S WITH NWR 213 ACCESSORY

M. V. Chervyakovskaya^{a,*}, V. S. Chervyakovskiy^a, A. A. Pupyshev^b, S. L. Votyakov^a

^a*Institute of Geology and Geochemistry Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia, 620110*

^b*Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Ekaterinburg, Russia, 620002*

*E-mail: zaitseva.mv1991@gmail.com

Abstract. The trace element composition and isotope ratios of Pb/U, Pb/Th and Pb/Pb in apatite were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry and laser ablation (LA) on a NexION 300S device with a NWR 213 laser ablation accessory, and the procedure for processing experimental data was described. The optimal performance parameters of the mass spectrometer and the laser attachment were determined, including in determining the trace element composition and U/Pb dating from a single crater with a size of 50 μm or more. Standard synthetic glasses NIST SRM-612, -610 were used to determine the trace element composition of apatite; reference samples (RS) were used to measure isotope ratios – Durango, Mun Mad and Mud Tank apatites analyzed in laboratories in different countries. According to scanning electron microscopy data, the shape of laser ablation craters in apatite RS grains was analyzed; significant grain heterogeneity in the content of matrix and impurity elements was shown. The metrological characteristics of the methods for the measurement period 2021–2023 are presented. The repeatability of measuring the isotope ratios of $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ and $^{208}\text{Pb}/^{232}\text{Th}$ is 0.54 and 0.72, 7.5 and 14.3, 1.5 and 4.4% for Mun Mad, Durango, Mud Tank, respectively. The variations in REE content in the reference samples (s_r) are 11–24, 5–13, 0.3–7% for Mun Mad, Durango, Mud Tank, respectively. The dating of apatite OS within the limits of uncertainty corresponds to those obtained in world laboratories. The methods were tested in the analysis of a number of apatite samples from Ural sites.

Keywords: U/Pb dating, apatite, inductively coupled plasma mass spectrometry, laser ablation, optimization of operational parameters, determination of the chemical composition of apatites

УДК 543.544

ПРИМЕНЕНИЕ КОМПОЗИТА НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА, ОКСИДА ГРАФЕНА И ИОННОЙ ЖИДКОСТИ ДЛЯ ИЗВЛЕЧЕНИЯ БИСФЕНОЛА А ИЗ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ МЕТОДОМ МАТРИЧНОГО ТВЕРДОФАЗНОГО ДИСПЕРГИРОВАНИЯ

© 2024 г. А. С. Губин^а*, П. Т. Суханов^а, А. А. Кушнир^а^аВоронежский государственный университет инженерных технологий
просп. Революции, 19, Воронеж, 394036 Россия

*E-mail: goubinne@mail.ru

Поступила в редакцию 29.02.2024 г.

После доработки 21.04.2024 г.

Принята к публикации 24.04.2024 г.

Предложен композит на основе наночастиц Fe_3O_4 , оксида графена и ионной жидкости (1-бутил-3-метилимидазолия-2-карбоксилата) в качестве сорбента для извлечения бисфенола А (БФА) из донных отложений методом матричного твердофазного диспергирования (МТФД). Намагниченность насыщения синтезированного сорбента составила 34 э.м.е./г. Измельчение донных отложений и последующее перетирание с сорбентом проводили на шаровой мельнице. Некоторые этапы МТФД частично автоматизированы, в частности процедуры магнитной сепарации, десорбции БФА и регенерации сорбента. Степень извлечения БФА в подобранных экспериментально условиях (масса сорбента — 0.5 г, время, необходимое для перетирания сорбента — 5 мин) составляет 94%. Сорбент выдерживает четыре цикла сорбции-десорбции без потери сорбционной емкости. Для очистки матрицы от мешающих влияний предложена промывка *n*-гептаном. Бисфенол А определяли методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии после дериватизации уксусным ангидридом. Аналитические характеристики метода устанавливали с применением модельных образцов донных отложений, которые искусственно загрязняли БФА. Предел определения разработанным способом составил 0.1 мкг/кг, интервал линейности градуировочного графика 0.3–12 мкг/кг ($r^2 = 0.994$). В качестве реальных объектов для анализа использованы донные отложения, отобранные вблизи сброса очистных сооружений г. Воронежа (р. Воронеж и р. Дон). Концентрация БФА в донных отложениях составила 3.83–6.52 мкг/кг.

Ключевые слова: матричное твердофазное диспергирование, наночастицы магнетита, оксид графена, бисфенол А, донные отложения, определение.

DOI: 10.31857/S0044450224090066, EDN: titgjz

Матричное твердофазное диспергирование (МТФД) впервые описано в 1989 г. С. Баркером с соавт. [1]. Сорбенты для МТФД должны обладать абразивными свойствами, поэтому ранее обычно применяли твердый материал-носитель октадецилсилил (C_{18}) — производное диоксида кремния, используемое в обращенно-фазовой хроматографии. Сущность МТФД состоит в том, что образец для анализа (в большинстве случаев твердый) помещают в агатовую ступку, содержащую другой твердый материал (сорбент) и перетирают [2]. При анализе жидких проб или проб с повышенной влажностью воду удаляют добавлением прокаленного Na_2SO_4 . При смешивании

должно произойти истирание и разрушение образца пробы. Затем перетертый образец переносят в колонку, подходящую для проведения последовательного элюирования растворителями. Для выделения выбранного соединения может быть использован один или несколько растворителей. Выделение определяемого вещества достигается применением вспомогательных колонок, заполненных сорбентами или носителями, используемыми в колоночной хроматографии.

За последние 10 лет при реализации МТФД перечень применяемых сорбентов значительно расширился. В настоящее время используют молекулярно импринтированные полимеры [3,

4], композиты на основе молекулярно импринтированных полимеров и силикагеля [5], нанопластины графена [6] и диоксид кремния, инкапсулированный в графен [7], молекулярные сита [8], хитозан [9], некоторые другие материалы. Также изменились подходы к перетиранию образца с абразивными материалами. Для этой цели оказалось перспективным применение шаровых мельниц [10].

С развитием МТФД начали реализовываться подходы с использованием магнитных сорбентов. Наночастицы (НЧ) Fe_3O_4 являются перспективным материалом для МТФД [11]. Метод МТФД с использованием в качестве сорбента магнетита в сочетании с ВЭЖХ с масс-спектрометрическим

детектированием применен для концентрирования и определения 30 пестицидов в пищевых продуктах [12]. Применение магнитных наносорбентов для МТФД является одним из современных трендов концентрирования [12]: существенно упрощается извлечение сорбента из матрицы, а также процедура выделения аналита, сокращается время пробоподготовки. Вместо вспомогательных колонок можно использовать магнитную сепарацию [13].

Метод МТФД позволяет проводить процедуру извлечения аналита за короткий промежуток времени в объектах сложного состава: пищевые продукты, биологические объекты, лекарственные препараты (табл. 1).

Таблица 1. Применение матричного твердофазного диспергирования для концентрирования аналитов из различных объектов

Аналиты	Объект анализа	Сорбент	Условия концентрирования	R, %	Литература
20 лекарственных веществ (фторхинолины, тетрациклины и сульфаниламиды)	Образцы свинины	Молекулярно импринтированные полимеры	$m_{об} = 0.2$ г, $m_c = 0.15$ г, $t = 3$ мин	74.5–102.7	[3]
Камптотецин	Плоды, кора и листья <i>Camptotheca acuminata</i>	Молекулярно импринтированные полимеры	$m_{об} = 0.1$ г, $m_c = 0.1$ г, $t = 5$ мин	96.1–103.3	[4]
Акриламид	Печенье и хлеб	Композиты на основе молекулярно импринтированных полимеров и силикагеля	$m_{об} = 0.1$ г, $m_c = 0.15$ г	83.7–99.3	[5]
6 фенольных кислот	Растительный препарат <i>Danshen Tablets</i>	Графеновые нанопластины	$m_{об} = 24$ мг, $m_c = 24$ мг, $t = 1$ мин	82.3 – 98.3	[6]
Полиметоксилированные флавоноиды	Листья <i>Murraya paniculata</i> (L.) Jack	Диоксид кремния, инкапсулированный в графен	$m_{об} = 25$ мг, $m_c = 50$ мг, $t = 3$ мин	92.6–102.3	[7]
Неорганический йод и йодированные аминокислоты	Морские водоросли	Молекулярное сито (SBA-15) с ионной жидкостью	$m_{об} = 50$ мг, $m_c = 50$ мг, $t = 30$ с	86.5–95.4	[8]
Природные фенолы	Плоды оливы (<i>Canarium album</i> L.)	Хитозан	$m_{об} = 50$ мг, $m_c = 25$ мг, $t = 1$ мин	80.1–113.0	[9]
5 фенолов	Лекарство <i>Rubi Fructus</i>	Al-SBA-15	$m_{об}/m_c = 1:3$, $t = 180$ с	98–102	[10]
30 пестицидов	Салат, огурец, морковь, томат, перец, лук-шалот, капуста	Наночастицы Fe_3O_4	$m_{об} = 50$ мг, $m_c = 50$ мг, $t = 0.5$ мин	71.0–110.8	[11]
Парабены	Молоко	Магнитный оксид графена, покрытый поли(индолтиофеном)	$m_c = 50$ мг, $t = 3$ мин	83–92	[14]

Примечание: t – время диспергирования, m_c – масса сорбента, $m_{об}$ – масса объекта анализа.

Материалы на основе графена и его производных являются эффективными сорбентами [15]. Простейшим способом функционализации графена является образование на его поверхности полярных групп ($-\text{COOH}$, $-\text{COO}$, $-\text{OH}$). Функционализация достигается окислением графитового порошка и других родственных материалов до оксида графена (ОГ) [16]. Функционализация ОГ ионными жидкостями (ИЖ) позволяет получить экологически чистый адсорбент с большой удельной площадью поверхности за счет изменения функциональных групп на поверхности магнитного ОГ [17].

Бисфенол А (БФА) — многотоннажный химический продукт, наиболее широко применяемый в производстве поликарбонатных полимеров [18]. БФА также широко используется при производстве контейнеров для пищевых продуктов и напитков, посуды, водопроводных труб [19], бумаги [20]. Для человека БФА считается относительно малотоксичным, однако вызывает в организме побочные эффекты, связанные с эстрогенной активностью [21, 22]. Значительно большую опасность БФА представляет для водной биоты [23]. Установлено, что БФА аккумулируется в донных отложениях (ДО) [24]. Для концентрирования и определения БФА в ДО или почвах используют экстракцию в аппарате Сокслета [25], жидкостную экстракцию под давлением [26], твердофазную экстракцию с использованием обращенных фаз [27]. Для определения БФА обычно применяют метод газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС) с предварительной дериватизацией путем ацетилирования или силилирования [28].

Цель настоящей работы — оценить эффективность применения композитного магнитного материала, состоящего из ОГ, НЧ магнетита и ИЖ для МТФД БФА из ДО и частично автоматизировать некоторые этапы концентрирования для повышения воспроизводимости результатов анализа.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Приборы и реактивы. Для синтеза ОГ применяли графитовый порошок (ГП) ос. ч. (8-4, ГОСТ 23463-79, Россия), H_2SO_4 ч. д. а. (Экос-1, Россия), KMnO_4 ч. д. а (Ленреактив, Россия) и H_2O_2 ч. д. а (Ленреактив, Россия). Для получения сорбента применяли N-гидроксисульфосукцинимид, ГСС (Sigma-Aldrich, США) и 1-этил-3-(3-диметиламино пропил)карбодиимид, ЭДК (Sigma-Aldrich, США), диметилформамид х. ч. (Ленреактив, Россия). Для очистки матрицы применяли *n*-гептан х. ч. для хроматографии (Ленреактив, Россия). Аналиты десорбировали метанолом для газовой хроматографии, 99.9% чистого вещества (Химмед, Россия). В качестве

исходных продуктов для синтеза ИЖ применяли N-бутилимидазол, 97% чистого вещества (Hangzhou Jhechem, Китай) и диметилкарбонат (Кемикал лайн, Россия). Пробы ДО измельчали на шаровой мельнице Retsch PM 200 (Retsch, Германия). Синтеза ИЖ проводили на масляной бане 5-drops 11D (5-drops, Россия). В качестве объекта исследования использовали БФА с содержанием основного вещества 97% (Sisco Research Laboratories, Индия). Автоматизированная система для концентрирования включала многоканальный перистальтический насос BT600LC-S (Baoding Chuangrui Precision Pump Co., Китай), трехходовые и шестиходовые краны (EUDF-L10UW, Valko, Швейцария), перемещение магнитов выполняли сервоприводом Powerful Nylon Gear Servo Motor SG-5010 (Китай) с манипулятором, на который и прикрепляли магнит.

Синтез композитного сорбента для МТФД включал получение магнетита, функционализированного первоначально ОН-группами ($\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$), а затем NH_2 -группами ($\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2\text{-NH}_2$); получение ОГ и ИЖ; получение композита на основе Fe_3O_4 и ОГ и его модификацию ИЖ.

Приготовление оксида графена проводили путем окисления ГП серной кислотой в присутствии перманганата калия. Для этого к 5 г ГП добавляли 200 мл 96%-ной H_2SO_4 и 7 г KMnO_4 . Смесь в течение 3 ч интенсивно перемешивали со скоростью 1000 об/мин, а затем 10 суток по 12 ч при 80–100 об/мин. Добавляли 0.5 л 5%-ной H_2SO_4 . Смесь термостатировали при 95–100°C, а затем в течение 2–3 ч температуру снижали до 55–60°C. Добавляли 20 мл 30%-ного H_2O_2 и перемешивали 4 ч при 500 об/мин. Центрифугированием отделяли коричневый осадок и троекратно промывали его смесью 5%-ной H_2SO_4 , 0.1 М HCl и H_2O_2 (1 : 1 : 1, по объему) в течение 20 мин. Осадок промывали бидистиллированной водой до нейтральной реакции промывных вод и сушили в течение 10 ч при 40°C.

Получение $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ и $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2\text{-NH}_2$. Для получения $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ проводили функционализацию Fe_3O_4 с применением тетраэтилоксисилката (ТЭОС), затем модифицировали поверхность НЧ магнетита аминогруппами с использованием (3-аминопропил)триэтоксисилана (АПТЭС). Синтез проводили аналогично [29].

Синтез 1-бутил-3-метилимидазола-2-карбоксилата (BuMeImCO_2) [30, 31]. В трубку из кварцевого стекла с завинчивающимися крышками помещали 3 мл N-бутилимидазола (BuIm), 4.5 мл диметилкарбоната и 0.5 мл метанола. Трубку помещали в масляную баню, заполненную силиконовым маслом, выдерживали 12 ч при 125°C. Полученные кристаллы промывали метанолом и высушивали при комнатной температуре. Препарат содержал 85% ИЖ.

Получение сорбента. К 50 мг ОГ добавляли 50 мл воды и перемешивали в ультразвуковой ванне (5 ч, 22 кГц). К полученной взвеси добавляли по 500 мг ГСС и ЭДК и 50 мг $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2\text{-NH}_2$, перемешивали 2 ч при 45°C при постоянном воздействии ультразвуком. Получали композит **ОГ-CO-NH- Fe_3O_4** . Навеску (2 мг) **ОГ-CO-NH- Fe_3O_4** помещали в 150 мл диметилформамида, интенсивно перемешивали, воздействовали ультразвуком (22 кГц), добавляли 0.3 г **BuIm-CO₂** и продолжали процедуру в течение 3 ч. Промывали полученную массу метанолом, затем 3 раза бидистиллированной водой порциями по 15 мл. Сушили под вакуумом 24 ч и получали темно-коричневый порошок магнитного композита на основе ОГ и ИЖ **BuMeImCO₂-ОГ-CO-NH- Fe_3O_4** . Схема синтеза представлена на рис. 1.

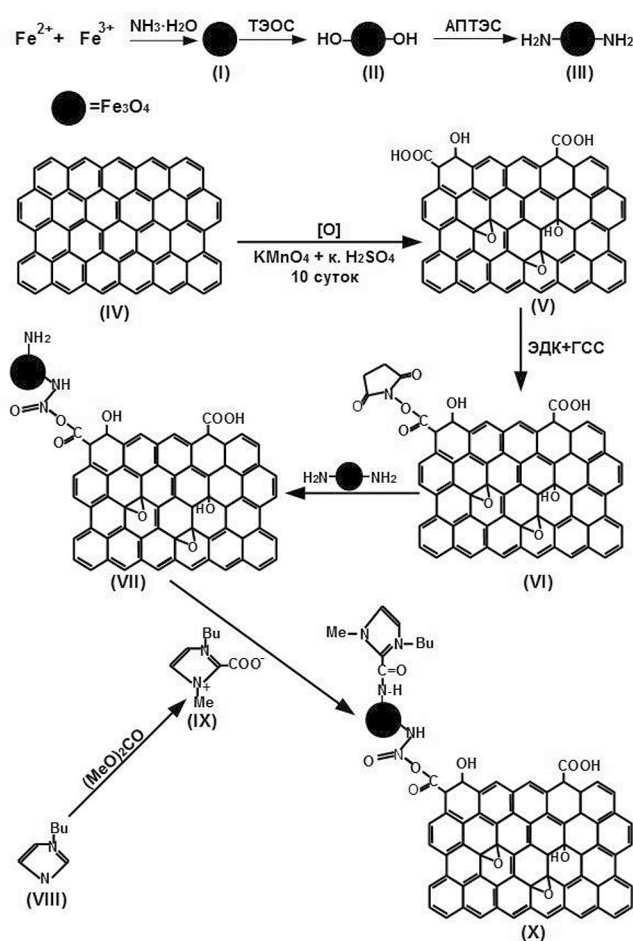


Рис. 1. Схема синтеза сорбента **BuImCO₂-ОГ-CO-NH- Fe_3O_4** : получение наночастиц Fe_3O_4 (I); модификация поверхности ОН-группами (II) и NH_2 -группами (III); окисление графита (IV) до оксида графена (V); модификация ГСС (VI) и ЭДК с получением **ОГ-CO-NH- Fe_3O_4** (VII); получение **BuImCO₂** (IX) по реакции **BuIm** (VIII) с диметилкарбонатом; получение **BuMeImCO₂-ОГ-CO-NH- Fe_3O_4** (X) при взаимодействии **ОГ-CO-NH- Fe_3O_4** и **BuImCO₂**.

Методика матричного твердофазного диспергирования. Для анализа отбирали 5 г ДО, предварительно высушенных до воздушно-сухого состояния. Измельчали в планетарной шаровой мельнице с шарами из оксида циркония в течение 30 мин до консистенции пудры. Средний размер частиц полученного порошка составлял 0.7–1.0 мкм. К порошку добавляли 0.5 г сорбента **BuImCO₂-ОГ-CO-NH- Fe_3O_4** и снова измельчали в шаровой мельнице в течение 5 мин. Полученный порошок извлекали и переносили в сосуд с 20 мл *n*-гептана, добавляли 0.1 г додецилсульфоната натрия, перемешивали мешалкой до получения устойчивой суспензии и переносили в емкость, соединенную с перистальтическим насосом.

Автоматизированная процедура концентрирования. Для концентрирования предложена автоматизированная система (рис. 2), состоящая из многоканального перистальтического насоса (ПН), двух колонок (К1 и К2 к которым подводятся и отводятся неодимовые магниты с помощью сервопривода с манипулятором. Все части системы соединены силиконовыми трубками с внутренним диаметром 1.8 мм. Управление потоками осуществляется посредством шестиходового крана (ШК) и трехходовых кранов (ТК1, ТК2). Позиции ШК при различных режимах работы представлены на рис 3. Воздух в систему подается компрессором (КР). Суспензия, полученная после обработки ДО в шаровой мельнице и перемешивания в *n*-гептане, подается через ШК в колонку К2, где магнитный сорбент извлекается из потока суспензии магнитами. Суспензия без магнитного сорбента отправляется на слив. Для десорбции БФА метанол (1 мл) из емкости через ШК направляется в колонку К1. Метанольный экстракт после десорбции упаривали до объема 0.1 мл в слабом токе азота и анализировали методом ГХ-МС. После десорбции сорбент в колонке промывали смесью ацетонитрил–метанол–вода (5 : 5 : 1, по объему), затем водой. После промывки неодимовые магниты отводились от колонки К2 и из компрессора (КР) подавали сжатый воздух. Регенерированный сорбент из колонки К2 направляли в съемную колонку К1, где он задерживался магнитным полем, создаваемым двумя магнитами. Колонку вынимали, извлекали сорбент для повторного использования.

Процедуру МТФД проводили также с сорбентами, являющимися промежуточными продуктами при синтезе **BuMeImCO₂-ОГ-CO-NH- Fe_3O_4** . Ее осуществляли по аналогичной схеме, добавляя к измельченным ДО Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2\text{-NH}_2$ и **ОГ-CO-NH- Fe_3O_4** соответственно.

Эффективность метода МТФД оценивали по степеням извлечения и коэффициентам

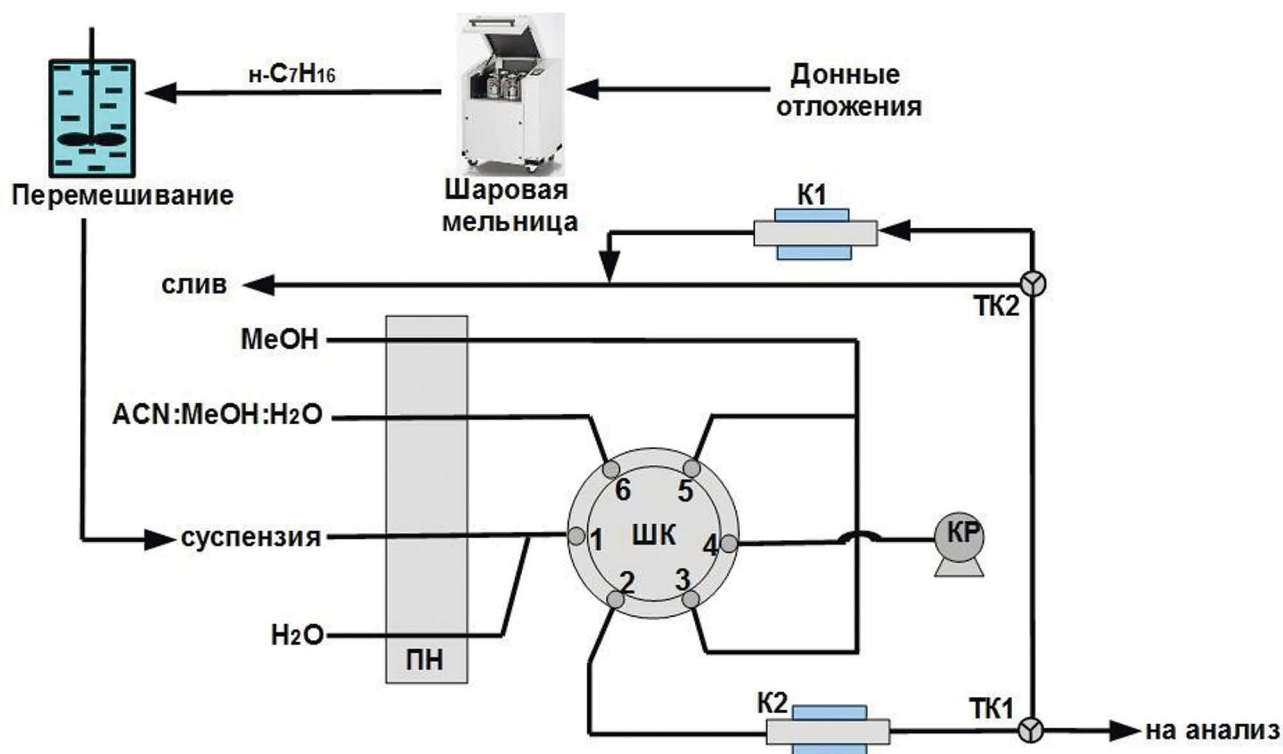


Рис. 2. Автоматизированная система матричного твердофазного диспергирования.

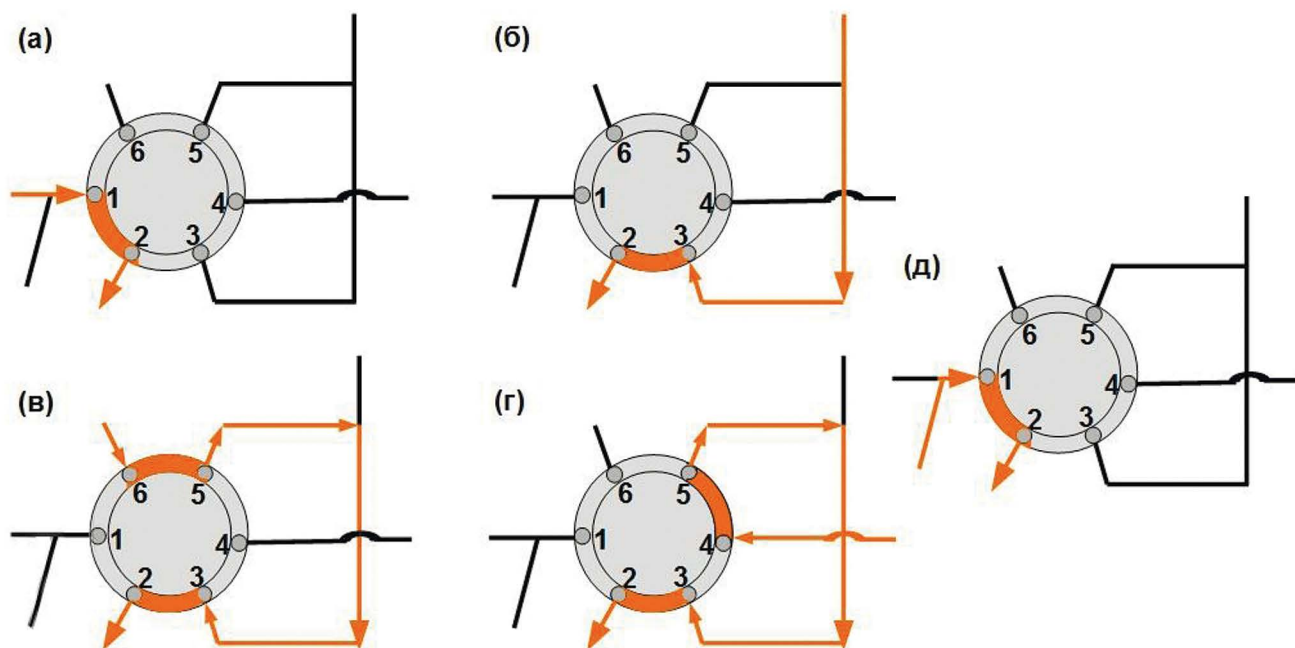


Рис. 3. Положение шестиходового крана и направление потоков при работе автоматизированной системы для матричного твердофазного диспергирования (см. схему на рис. 2, оранжевый цвет – действующий поток, черный цвет – недействующий поток): (а) – пропускание суспензии через колонку К2; (б) – десорбция бисфенола А; (в) – промывка сорбента в колонке К2; (г) – продувка системы воздухом, транспортировка сорбента в колонку К1; (д) – промывка системы бидистиллированной водой.

концентрирования EF [29], которые рассчитывали, как отношение концентрации БФА после упаривания метанольного концентрата к исходной концентрации БФА в ДО.

Определение бисфенола А в концентратах методом ГХ-МС проводили после дериватизации уксусным ангидридом способом, описанным в работе [32]. Упаренный метанольный экстракт инжесктировали в узел ввода газового хроматографа. Хроматографическое разделение проводили на хроматографе Agilent 7890B GC System с масс-детектором Agilent 5977A MSD (Agilent Technologies, США) при следующих условиях: объем пробы: 1.0 мкл, деление потока: 30 : 1, неполярная колонка HP-5MS UI (30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм), неподвижная фаза: (5% фенил)-метилполисилоксан, газ-носитель — гелий (1.0 мл/мин), температура узла ввода пробы: 280°C, температура источника ионов: 250°C, применялась электронная ионизация с энергией электронов 70 эВ и программирование температуры: стартовая температура — 90°C в течение 1 мин, далее ее поднимали со скоростью 3°C/мин до 150°C, 6°C/мин до 210°C и 10°C/мин до 280°C и удерживали 5 мин. Сканирование проводили по полному ионному току; диапазон масс m/z 213–270.

Апробация способа определения бисфенола А на модельных и реальных объектах. В качестве реальных объектов применяли ДО из фоновой зоны, защищенной от антропогенного воздействия (ДО из оз. Чистое, Воронежский биосферный заповедник). Донные отложения извлекали со дна с помощью ковша Ван-Вина (объем 0.5 л) и высушивали при комнатной температуре до воздушно-сухого состояния. В матрицу вводили раствор БФА в метаноле, перемешивали и выдерживали до испарения спирта.

В качестве реальных объектов использовали ДО в месте сброса левобережных и правобережных очистных сооружений г. Воронежа (р. Воронеж и р. Дон). Пробы отбирали ковшом Ван Вина (объем 0.5 л) с глубины 1.2–1.3 м в зонах с устойчивым ламинарным течением, исключаяющим значительное перемешивание и перемещение ДО.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Частицы сорбента представляют собой сложный композит. Размер ядра, покрытого оболочкой ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-NH}_2$), составляет в среднем 250 нм (рис. 4). На микрофотографии сорбента $\text{BuImCO}_2\text{-OG-CO-NH-Fe}_3\text{O}_4$ видно, что ядра связаны с ОГ, который представлен в виде темных тяжей (рис. 4). Структура сорбента подтверждена методом ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье (рис. 5). В ИК-спектре установлены колебания связей Fe-O (577 cm^{-1}), Si-O (1105 cm^{-1}), $-\text{C-O-C}-$ (1278 cm^{-1}), $-\text{C}=\text{C}-$ (1465 cm^{-1}),

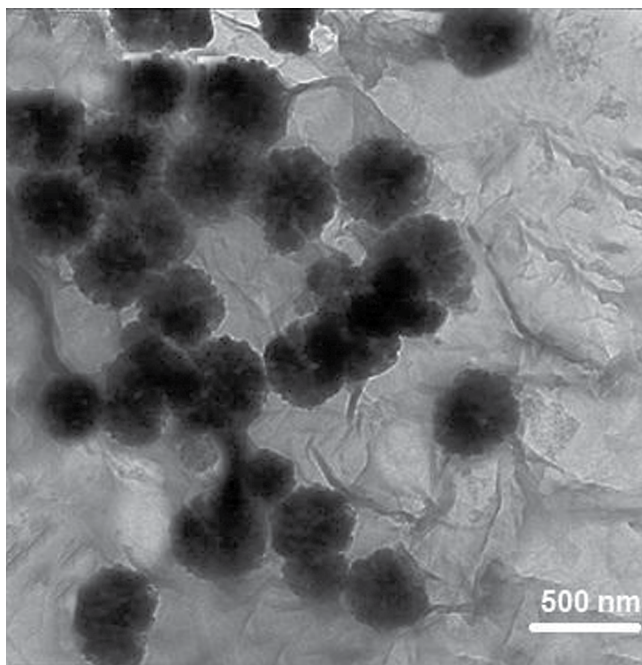


Рис. 4. Микрофотография композита $\text{BuMeImCO}_2\text{-OG-CO-NH-Fe}_3\text{O}_4$.

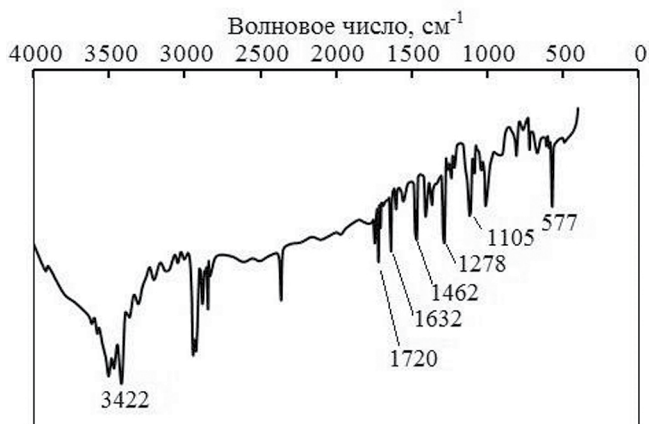


Рис. 5. ИК-фурье спектры композита $\text{BuMeImCO}_2\text{-OG-CO-NH-Fe}_3\text{O}_4$.

группы $-\text{C(O)-NH}$, за счет которой происходит присоединение к ОГ, (1632 cm^{-1}), связи C=O (1720 cm^{-1}) и NH_2 -группы (3422 cm^{-1}) [33, 34].

Дифрактограмма образца $\text{BuImCO}_2\text{-OG-CO-NH-Fe}_3\text{O}_4$ (рис. 6) содержит пики магнетита (2θ 30.38°, 35.58°, 44.14°, 53.48°, 57.08° и 62.66°), соответствующие значениям интенсивностей (211), (311), (400), (422), (511) и (440), а также широкие пики при 2θ 20–29°, которые характерны для аморфного кремния вокруг $\text{H}_2\text{Fe}_3\text{O}_4$ [34]. Пики ОГ (2θ 10.21° и 43.05°) соответствуют интенсивностям (001) и (100) [35]. Намагниченность насыщения сорбента — 34 э.м.е./г (рис. 7).

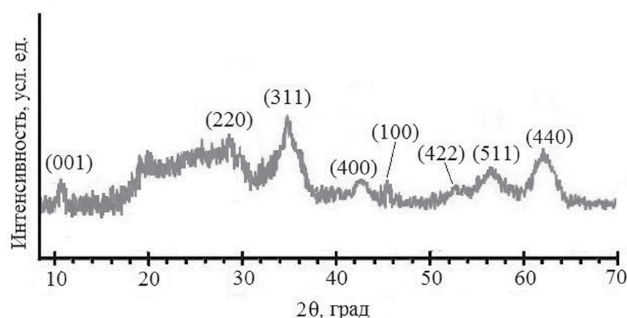


Рис. 6. Дифрактограмма композита BuMeImCO₂-OG-CO-NH-Fe₃O₄.

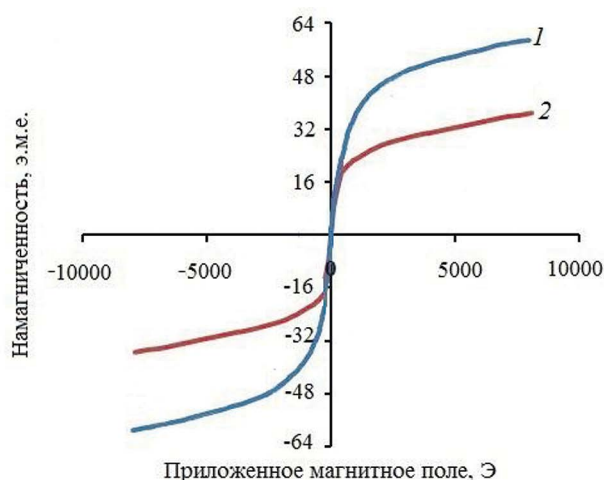


Рис. 7. Кривые намагниченности Fe₃O₄ (1) и композита BuMeImCO₂-OG-CO-NH-Fe₃O₄ (2).

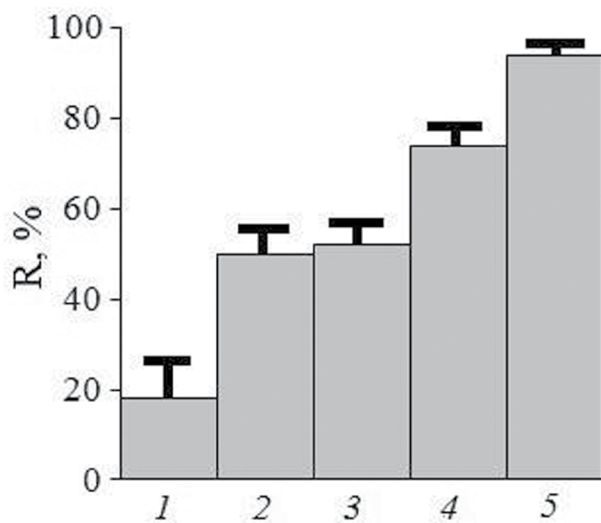


Рис. 8. Эффективность извлечения бисфенола А из донных отложений методом матричного твердофазного диспергирования с применением Fe₃O₄ (1), Fe₃O₄@SiO₂ (2), Fe₃O₄@SiO₂-NH₂ (3), GO-CO-NH-Fe₃O₄ (4), BuMeImCO₂-GO-CO-NH-Fe₃O₄ (5).

При синтезе сорбента для увеличения эффективности извлечения БФА применена более гидрофобная ИЖ по сравнению с описанной в работе [33]. ИЖ иммобилизована на сорбенте за счет ковалентных связей по механизму, предложенному в работе [36]. Для оценки эффективности применения сорбента BuImCO₂-OG-CO-NH-Fe₃O₄ по аналогичному алгоритму проведена МТФД с каждой из составляющей композита — Fe₃O₄, Fe₃O₄@SiO₂, Fe₃O₄@SiO₂-NH₂ и OG-CO-NH-Fe₃O₄ (рис. 8). При проведении МТФД установлено, что последовательное добавление каждой составляющей в структуру композита увеличивает степень извлечения БФА. Сорбция магнетитом обеспечивает извлечение 18% БФА. Эффективность извлечения резко увеличивается при функционализации сорбента SiO₂ (модификация ОН-группами с получением Fe₃O₄@SiO₂). Степень извлечения составляет 50%. При модификации поверхности NH₂-группами (Fe₃O₄@SiO₂-NH₂) степень извлечения БФА составляет 52%. При сорбции БФА композитом OG-CO-NH-Fe₃O₄ степень извлечения возрастает до 74%. Модификация сорбента BuIm-CO₂ с получением композита BuMeImCO₂-OG-CO-NH-Fe₃O₄ обеспечивает ≈ 94%-ное извлечение.

Основной стадией, вносящей значительную погрешность в извлечение и, соответственно, в определение БФА является перетирание в агатовой ступке, которое проводится вручную. Поскольку донные отложения характеризуются различной структурой (с преобладанием минеральной части или со значительной долей биогенной составляющей), то их измельчение и перетирание в агатовой ступке с сорбентом часто требует больших усилий. Это приводит к ухудшению воспроизводимости результатов эксперимента. Для уменьшения погрешности и повышения воспроизводимости результатов определения перетирание проводили с применением шаровой мельницы, которая в автоматическом режиме обеспечивает максимальное единообразие условий перемешивания сорбента и пробы.

Для нивелирования матричных эффектов применяли промывание сорбента *n*-гептаном. В нем растворяются практически все гидрофобные примеси (жиры, масла, нефтепродукты и продукты их окисления), которые составляют основу загрязнения ДО и существенно усложняют процедуру пробоготовки [37]. БФА практически нерастворим в *n*-гептане. Многие техногенные фенолы (в том числе хлорфенолы, алкилфенолы) умеренно или хорошо растворимы в *n*-гептане, поэтому в значительной степени или практически полностью извлекаются им из матрицы. Хроматограммы реальных образцов (рис. 9) содержат небольшое количество

побочных пиков малой интенсивности, которые не мешают определению БФА в сильно загрязненной матрице донных отложений. Промывание пробы *n*-гептаном приводит к полному или практически полному удалению большинства гидрофобных веществ, которые характеризуются высоким сродством к матрице ДО.

Выбор условий концентрирования с применением МТФД состоял в установлении необходимой массы сорбента, продолжительности перетирания в шаровой мельнице и десорбции метанолом. Изучена также возможность использования сорбента при нескольких циклах сорбции-десорбции.

Установлено, что масса сорбента 0.5 г обеспечивает степень извлечения БФА на уровне 94% (рис. 10а). Необходимое время перетирания сорбента в шаровой мельнице с измельченными ДО (время достижения равновесия) составляет 5 мин (рис. 10б). При десорбции БФА метанолом с магнитного сорбента практически полная десорбция (*D*, %) достигается за 5 мин (рис. 10в).

По коэффициентам *EF* оценена способность к регенерации сорбента. $\text{BuMeImCO}_2\text{-OG-CO-NH-Fe}_3\text{O}_4$ выдерживает четыре цикла сорбции-десорбции без существенной потери сорбционной емкости (рис. 10г). За четыре цикла коэффициенты *EF* снижаются на 4.5%. На пятом цикле сорбции-десорбции происходит снижение *EF* на 15%. Основное влияние на снижение сорбционной емкости оказывают металлоганические соединения (особенно соединения ртути – метилртуть, этилртуть, фенилртуть и др.), которые также эффективно сорбируются гуматами в условиях МТФД (идентифицированы на хроматограмме после десорбции). При этом их десорбция в условиях эксперимента, вероятно, протекает в незначительной степени и вызывает постепенное накопление металлоганических соединений в сорбенте.

Частичная автоматизация процедуры МТФД, включающая магнитную сепарацию, десорбцию

и регенерацию сорбента, позволяет упростить процессы отделения матрицы от сорбента, улучшить воспроизводимость каждой из стадий пробоподготовки. Совместное внедрение магнитной сепарации и автоматизации отдельных этапов МТФД позволило исключить перенос сорбента в колонку и его упаковку в ней, применение вспомогательных колонок и сорбентов, что привело к значительному сокращению времени получения концентрата, улучшению метрологических характеристик каждого этапа по сравнению с классическим вариантом МТФД.

Пределы определения и обнаружения БФА при анализе модельных образцов составляют 0.3 и 0.08 мкг/кг соответственно, интервал линейности градуировочного графика ($r^2 = 0.994$) 0.3–12 мкг/кг (табл. 2). При анализе проб донных отложений, отобранных в 2023 году у левобережных и правобережных очистных сооружений г. Воронежа, установлены приблизительно одинаковые уровни загрязненности в обеих точках без выраженных сезонных колебаний. Максимальное содержание БФА в ДО (табл. 3) установлено около места сброса левобережных очистных сооружений 6.52 мкг/

Таблица 2. Результаты определения бисфенола А в модельных образцах донных отложений ($n = 3$, $P = 0.95$)

Введено, мкг/кг	Найдено, мкг/кг	s_r , %
0.5	0.39 ± 0.15	14.5
1.0	0.91 ± 0.25	11.3
2.0	1.94 ± 0.28	5.8
5.0	5.07 ± 0.51	4.0
10.0	10.5 ± 0.8	2.8

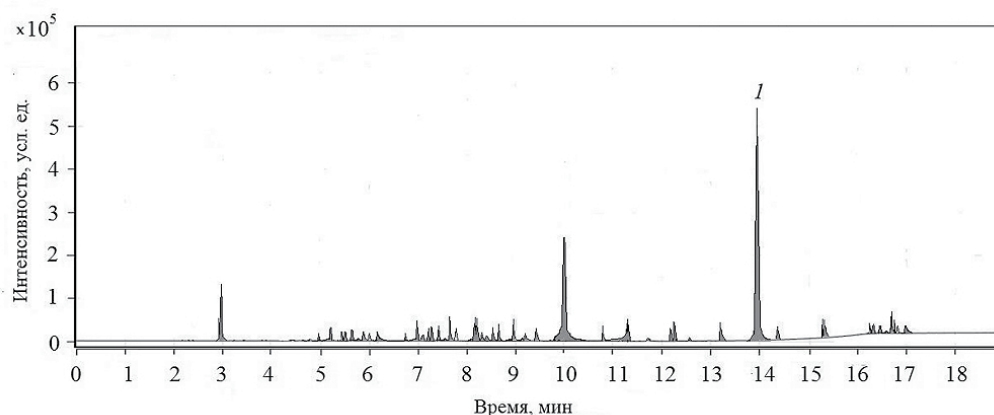


Рис. 9. Хроматограмма образца донных отложений (цифрой 1 обозначен пик бисфенола А).

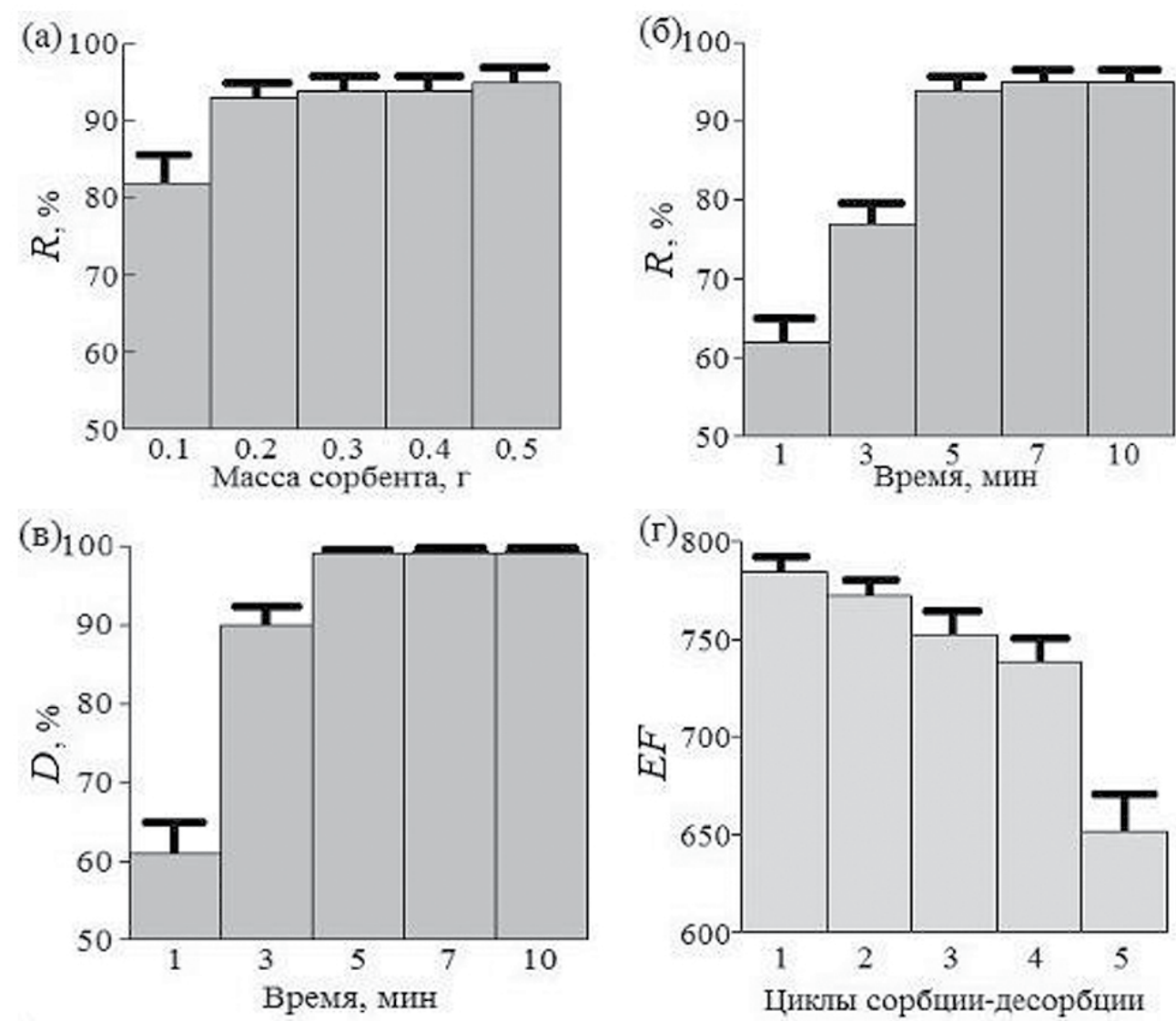


Рис. 10. Обоснование выбора условий концентрирования бисфенола А при применении матричного твердофазного диспергирования: выбор массы сорбента (а), установление времени перетирания в шаровой мельнице (б) и времени десорбции (в), установление возможности повторного использования сорбента – количества циклов сорбции-десорбции (г).

Таблица 3. Результаты определения бисфенола А в реальных объектах ($n = 3, P = 0.95$)

Место отбора проб	Дата отбора проб	Найдено БФА, мкг/кг	$s_r, \%$	Дата отбора проб	Найдено БФА, мкг/кг	$s_r, \%$
Воронежское водохранилище (150 м от сброса левобережных очистных сооружений) координаты 51°39'29"N, 39°13'38"E	12.03.2023 г.	3.89 ± 0.45	4.5	08.09.2023 г.	3.95 ± 0.45	4.5
	15.05.2023 г.	4.99 ± 0.50	4.0	12.11.2023 г.	6.52 ± 0.58	3.5
р. Дон (320 м от сброса правобережных очистных сооружений) координаты 51°39'44"N, 39°04'15"E	16.03.2023 г.	3.83 ± 0.51	4.6	18.09.2023 г.	4.38 ± 0.51	4.7
	15.06.2023 г.	5.78 ± 0.54	3.7	29.10.2023 г.	5.82 ± 0.63	3.8

кг, минимальное содержание — у правобережных очистных сооружений (3.83 мкг/кг). Полученные результаты соответствуют ранее полученным с использованием для концентрирования БФА сорбентов на основе молекулярно импринтированных полимеров [38].

* * *

Композит на основе НЧ Fe_3O_4 , ОГ и 1-бутил-3-метилимидазолия-2-карбоксилата применен в качестве сорбента для извлечения БФА из ДО методом МТФД. Степень извлечения БФА составила 94% при однократной сорбции. Для снижения матричных эффектов применена очистка пробы *n*-гептаном. Совместное внедрение магнитной сепарации и автоматизации отдельных этапов МТФД позволило сократить продолжительность и количество этапов МТФД, а также продолжительность пробоподготовки. Сочетание МТФД и ГХ-МС успешно применено для определения БФА в ДО. Предел определения БФА новым способом составляет 0.1 мкг/кг.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий». Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Barker S.A., Long A.R., Short C.R. Isolation of drug residues from tissues by solid phase dispersion // *J. Chromatogr.* 1989. V. 475. P. 353.
[https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(01\)89689-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(01)89689-8)
2. Barker S.A. Matrix solid phase dispersion (MSPD) // *J. Biochem. Biophys. Methods.* 2007. V. 70. № 2. P. 151.
<https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2006.06.005>
3. Wang G.N., Zhang L., Song Y.P., Liu J.X., Wang J.P. Application of molecularly imprinted polymer based matrix solid phase dispersion for determination of fluoroquinolones, tetracyclines and sulfonamides in meat // *J. Chromatogr. B.* 2017. V. 1065. P. 104.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.09.034>
4. Liu H., Hong Y., Chen L. Molecularly imprinted polymers coated on carbon nanotubes for matrix solid phase dispersion extraction of camptothecin from *Camptotheca acuminata* // *Anal. Methods.* 2015. V. 7. P. 8100.
<https://doi.org/10.1039/C5AY01721A>
5. Arabi M., Ghaedi M., Ostovan A. Development of dummy molecularly imprinted based on functionalized silica nanoparticles for determination of acrylamide in processed food by matrix solid phase dispersion // *Food Chem.* 2016. V. 210. P. 78.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.080>
6. Peng L.Q., Yi L., Yang Q.C., Cao J., Du L.J., Zhang Q.D. Graphene nanoplatelets based matrix solid-phase dispersion microextraction for phenolic acids by ultrahigh performance liquid chromatography with electrochemical detection // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 7496.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-07840-2>
7. Sun T., Li X., Yang J., Li L., Jin Y., Shi X. Graphene-encapsulated silica as matrix solid-phase dispersion extraction sorbents for the analysis of poly-methoxylated flavonoids in the leaves of *Murraya paniculata* (L.) Jack // *J. Sep. Sci.* 2015. V. 38. P. 2132.
<https://doi.org/10.1002/jssc.201500002>
8. Cao J., Peng L.Q., Xu J.J., Du L.J., Zhang Q.D. Simultaneous microextraction of inorganic iodine and iodinated amino acids by miniaturized matrix solid-phase dispersion with molecular sieves and ionic liquids // *J. Chromatogr. A.* 2016. V. 1477. P. 1.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.11.053>
9. Peng L.Q., Li Q., Chang Y.X., An M., Yang R., Tan Z., Hao J., Cao J., Xu J.J., Hu S.S. Determination of natural phenols in olive fruits by chitosan assisted matrix solid-phase dispersion microextraction and ultrahigh performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2016. V. 1456. P. 68.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.06.011>
10. Yan C., Zhang Y., Du K., Guo J., He J., Li J., Chang Y. A ball mill-assisted vortex-enhanced matrix solid-phase dispersion method for the extraction and determination of five phenolic compounds from Rubi Fructus by high-performance liquid chromatography // *Sep. Sci. Plus.* 2021. V. 4. P. 211.
<https://doi.org/10.1002/sscp.202000110>
11. Jin L., Chunhong J., Xiaoliang L., Xuesheng L., Haiyan W., Dongqiang Z. Fe_3O_4 nanoparticles as matrix solid-phase dispersion extraction adsorbents for the analysis of thirty pesticides in vegetables by ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B.* 2021. V. 1165. Article 122532.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122532>
12. Tu X., Chen W. A review on the recent progress in matrix solid phase dispersion // *Molecules.* 2018. V. 23. № 11. Article 2767.
<https://doi.org/10.3390/molecules23112767>
13. Yu X., Yang H.S. Pyrethroid residue determination in organic and conventional vegetables using liquid-solid extraction coupled with magnetic solid phase extraction based on polystyrene-coated magnetic nanoparticles // *Food Chem.* 2017. V. 217. P. 303.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.115>

14. Fotouhi M., Seidi S., Shanehsaz M., Naseri M.T. Magnetically assisted matrix solid phase dispersion for extraction of parabens from breast milks // J. Chromatogr. A. 2017. V. 1504. P. 17.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.05.009>
15. Fraga T., Carvalho M., Ghislandi M., Motta M. Functionalized graphene-based materials as innovative adsorbents of organic pollutants: a concise overview // Braz. J. Chem. Engin. 2019. V. 36. P. 1.
<https://doi.org/10.1590/0104-6632.20190361s20180283>
16. Wang J., Yu S., Zhao Y., Wang X., Wen T., Yang T., Ai Y., Chen Y., Hayat T., Alsaedi A., Wang X. Experimental and theoretical studies of ZnO and MgO for the rapid coagulation of graphene oxide from aqueous solutions // Sep. Purif. Technol. 2017. V. 184. P. 88.
<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.03.058>
17. Gholami-Bonabi L., Ziaefar N., Sheikhloie H. Removal of phenol from aqueous solutions by magnetic oxide graphene nanoparticles modified with ionic liquids using the Taguchi optimization approach // Water Sci. Technol. 2020. V. 81. № 2. P. 228.
<https://doi.org/10.2166/wst.2020.082>
18. Halden R.U. Plastics and health risks // Ann. Rev. Public Health. 2010. V. 31. № 1. P. 179.
<https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.012809.103714>
19. Caballero-Casero N., Lunar L., Rubio S. Analytical methods for the determination of mixtures of bisphenols and derivatives in human and environmental exposure sources and biological fluids. A review // Anal. Chim. Acta. 2016. V. 908. P. 22.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.12.034>
20. Амосов А.С., Ульяновский Н.В., Косяков Д.С. Одновременное определение антрахинона и бисфенола А в целлюлозно-бумажной продукции методом высокоэффективной жидкостной хроматографии-тандемной масс-спектрометрии // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 11. С. 810. (Amosov A.S., Ul'yanovskii N.V., Kosyakov D.S. Simultaneous determination of anthraquinone and bisphenol A in pulp and paper products by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // J. Anal. Chem. 2019. V. 74. P. 1089.)
<https://doi.org/10.1134/S1061934819110029>
21. Ma Y., Liu H., Wu J., Yuan L., Wang Y., Du X., Wang R., Marwa P.W., Petlulu P., Chen X., Zhang H. The adverse health effects of bisphenol A and related toxicity mechanisms // Environ. Res. 2019. V. 176. Article 108575.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108575>
22. Ghahremani M.-H., Ghazi-Khansari M., Farsi Z., Yazdanfar N., Jahanbakhsh M., Sadighara P. Bisphenol A in dairy products, amount, potential risks, and the various analytical methods, a systematic review // Food Chem: X. 2024. V. 21. Article 101142.
<https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101142>
23. Farahin Mohd Ali N., Sajid M., Ibrahim Thani Abd Halim W., Husaini Mohamed A., Nadhirah Mohamad Zain N., Kamaruzaman S., Suhaila Mohamad Hanapi N., Nazihah Wan Ibrahim W., Yahaya N. Recent advances in solid phase extraction methods for the determination of bisphenol A and its analogues in environmental matrices: An updated review // Microchem. J. 2023. V. 184. Article 108158.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.108158>
24. Xu X., Wang Y., Li X. Sorption behavior of bisphenol A on marine sediments // J. Environ. Sci. Health A. 2008. V. 43. № 3. P. 239.
<https://doi.org/10.1080/10934520701792696>
25. Song M.Y., Xu Y., Jiang Q.T., Lam P.K. S., O'Toole D.K., Giesy J.P., Jiang G.B. Measurement of estrogenic activity in sediments from Haihe and Dagou River China // Environ. Int. 2006. V. 32. № 5. P. 676.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.03.002>
26. Dorival-Garcia N., Zafra-Gomez A., Nava-lon A., Vilchez J.L. Analysis of bisphenol A and its chlorinated derivatives in sewage sludge samples. Comparison of the efficiency of three extraction techniques // J. Chromatogr. A. 2012. V. 1253. P. 1.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.06.079>
27. Xu J., Wu L., Chen W., Chang A.C. Simultaneous determination of pharmaceuticals, endocrine disrupting compounds and hormone in soils by gas chromatography-mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2008. V. 1202. № 2. P. 189.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.07.001>
28. Caballero-Casero N., Lunar L., Rubio S. Analytical methods for the determination of mixtures of bisphenols and derivatives in human and environmental exposure sources and biological fluids. A review // Anal. Chim. Acta. 2016. V. 908. P. 22.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.12.034>
29. Gubin A.S., Sukhanov P.T., Kushnir A.A., Shikhaliev K.S., Potapov M.A., Kovaleva E.N. Ionic-liquid-modified magnetite nanoparticles for MSPE-GC-MS determination of 2,4-D butyl ester and its metabolites in water, soil, and bottom sediments // Environ. Nanotechnol. Monit. Manag. 2022. V. 17. Article 100652.
<https://doi.org/10.1016/j.enmm.2022.100652>
30. Voutchkova A.M., Feliz M., Clot E., Eisenstein O., Crabtree R.H. Imidazolium Carboxylates as versatile and selective n-heterocyclic carbene transfer agents: synthesis, mechanism, and applications // J. Am. Chem. Soc. 2007. V. 129. № 42. P. 12834.
<https://doi.org/10.1021/ja0742885>
31. Holbrey J.D., Reichert W.M., Tkatchenko I., Bouajila E., Walter O., Tommasi I., Rogers R.D. 1,3-Dimethylimidazolium-2-carboxylate: the unexpected synthesis of an ionic liquid precursor and carbene-CO₂ adduct // Chem. Commun. 2002. V. 1. P. 28.
<https://doi.org/10.1039/b211519k>
32. Губин А.С., Суханов П.Т., Кушнир А.А. Применение магнитного сорбента на основе сверхсшитого полистирола в сочетании с газовой хроматографией-масс-спектрометрией для определения хлорфенолов в рыбе пресноводного водоема // Журн. аналит. химии. 2023. Т. 78. № 5. С. 427.

- (Gubin A.S., Sukhanov P.T., Kushnir A.A. Using a magnetic sorbent based on hypercrosslinked polystyrene in combination with gas chromatography–mass spectrometry for the determination of chlorophenols in freshwater fish // *J. Anal. Chem.* 2023. V. 78. P. 582.)
<https://doi.org/10.1134/S1061934823050064>
33. Cai M.Q., Su J., Hu J.Q., Wang Q., Dong C.Y., Pan S.D., Jin M.C. Planar graphene oxide-based magnetic ionic liquid nanomaterial for extraction of chlorophenols from environmental water samples coupled with liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2016. V. 1459. P. 38.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.06.086>
 34. Gubin A.S., Sukhanov P.T., Kushnir A.A. Magnetic sorbent modified by humate for the extraction of alkylphenols, bisphenol A and estradiol // *Mendelev Commun.* 2023. V. 33. № 2. P. 285.
<https://doi.org/10.1016/j.mencom.2023.02.044>
 35. Sengupta I., Suddhapalli S., Pal S., Chakraborty S. Characterization of structural transformation of graphene oxide to reduced graphene oxide during thermal annealing // *J. Mater. Res.* 2020. V. 35. P. 1197.
<https://doi.org/10.1557/jmr.2020.55>
 36. Jiang B., Yang K., Zhao Q., Wu Q., Liang Z., Zhang L., Peng X., Zhang Y. Hydrophilic immobilized trypsin reactor with magnetic graphene oxide as support for high efficient proteome digestion // *J. Chromatogr. A.* 2012. V. 1254. P. 8.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.07.030>
 37. Gubin A.S., Sukhanov P.T., Kushnir A.A., Shikhaliyev Kh.S., Potapov M.A., Kovaleva E.N. Monitoring of phenols in natural waters and bottom sediments: Preconcentration on a magnetic sorbent, GC-MS analysis, and weather observations // *Chemical Papers.* 2021. V. 75. № 4. P. 1445.
<https://doi.org/10.1007/s11696-020-01398-6>
 38. Губин А.С., Суханов П.Т., Кушнир А.А., Шихалиев Х.С., Потапов М.А. Применение магнитных сорбентов, модифицированных молекулярно импринтированными полимерами, для скрининга фенольных ксеноэстрогенов // *Аналитика и контроль.* 2023. Т. 27. № 1. С. 32.
<https://doi.org/10.15826/analitika.2023.27.1.003>

APPLICATION OF A COMPOSITE BASED ON MAGNETITE NANOPARTICLES, GRAPHENE OXIDE AND IONIC LIQUID FOR THE EXTRACTION OF BISPHENOL A FROM BOTTOM SEDIMENTS BY MATRIX SOLID-PHASE DISPERSION

A. S. Gubin^{a,*}, P. T. Sukhanov^a, A. A. Kushnir^a

^a*Voronezh State University of Engineering Technologies
 Revolution Ave., 19, Voronezh, 394036 Russia*

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

Abstract. A composite based on Fe₃O₄ nanoparticles, graphene oxide and ionic liquid (1-butyl-3-methylimidazolium-2-carboxylate) is proposed as a sorbent for the extraction of bisphenol A (BPA) from bottom sediments by matrix solid-phase dispersion (MSPD). The saturation magnetization of the synthesized sorbent was 34 emu/g. Grinding of bottom sediments and subsequent grinding with the sorbent was carried out in a ball mill. Some stages of MSPD are partially automated, in particular the procedures of magnetic separation, BPA desorption and sorbent regeneration. The degree of extraction of BPA under experimentally selected conditions (sorbent weight is 0.5 g, the time required for grinding the sorbent is 5 minutes) is 94%. The sorbent can withstand four sorption-desorption cycles without loss of sorption capacity. To clean the matrix from interfering influences, washing with *n*-heptane is proposed. Bisphenol A was determined by gas chromatography–mass spectrometry after derivatization with acetic anhydride. The analytical characteristics of the method were established using model samples of bottom sediments that artificially polluted BPA. The limit of determination by the developed method was 0.1 µm/kg, the linearity interval of the calibration graph was 0.3–12 µm/kg ($r^2 = 0.994$). The bottom sediments selected near the discharge of the Voronezh wastewater treatment plants (Voronezh River and Don River) were used as real objects for analysis. The concentration of BPA in bottom sediments was 3.83–6.52 µm/kg.

Keywords: matrix solid-phase dispersion, magnetite nanoparticles, graphene oxide, bisphenol A, bottom sediments, determination

УДК 543.054, 543.635.9

МАГНИТНАЯ ТВЕРДОФАЗНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ С ДИСПЕРГИРОВАНИЕМ МАГНИТНОГО СВЕРХСШИТОГО ПОЛИСТИРОЛА УГЛЕКИСЛЫМ ГАЗОМ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ АМФЕНИКОЛОВ ИЗ МЕДА И МОЛОКА ПРИ ИХ ОПРЕДЕЛЕНИИ МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС

© 2024 г. Н. О. Гончаров^a, В. В. Толмачева^{a,*}, Т. В. Лазаревич^{a,b}, А. О. Мелехин^c,
И. Д. Пурыскин^a, В. В. Апяри^a, С. Г. Дмитриенко^a

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

^bUniversität Leipzig,

Augustus pl., 10, 04109 Leipzig, Germany

^cФедеральный центр охраны здоровья животных
мкр. Юрьево, Владимир 6009101 Россия

*E-mail: nikatolm@mail.ru

Поступила в редакцию 27.03.2024 г.

После доработки 05.04.2024 г.

Принята к публикации 05.04.2024 г.

Метод магнитной твердофазной экстракции с диспергированием магнитного сверхсшитого полистирола (МССПС) углекислым газом предложен для выделения и концентрирования амфениколов (хлорамфеникола, флорфеникола и тиамфеникола) из меда и молока перед их определением методом ВЭЖХ-МС/МС. Использовали шипучие таблетки, состоящие из гидрокарбоната натрия, лимонной кислоты и МССПС в случае меда, гидрокарбоната натрия и МССПС в случае молока. Выбраны условия получения таблеток (количество и соотношение кислоты, основания и МССПС в составе таблетки и ее масса), обеспечивающие количественное выделение амфениколов. Разработаны методики определения амфениколов в меде и молоке с диспергированием сорбента углекислым газом и последующим определением соединений методом ВЭЖХ-МС/МС. Пределы определения составили 0.3–1 и 0.02–0.05 мкг/кг для меда и молока соответственно.

Ключевые слова: амфениколы, мед, молоко, магнитная твердофазная экстракция, диспергирование углекислым газом, магнитный сверхсшитый полистирол, ВЭЖХ-МС/МС.

DOI: 10.31857/S0044450224090073, EDN: tisjif

Метод магнитной твердофазной экстракции (МТФЭ), известный также как дисперсионная магнитная твердофазная экстракция, в последние годы находит все более широкое применение в анализе пищевых продуктов для выделения лекарственных веществ, пестицидов и других органических соединений перед их хроматографическим определением [1–5]. Традиционная процедура проведения МТФЭ включает диспергирование магнитного сорбента в анализируемом растворе с использованием шейкеров, лабораторных вихревых смесителей или ультразвуковых ванн. В качестве альтернативного способа, исключающего применение внешних источников энергии и дополнительного оборудования, предложено диспергировать магнитный сорбент

углекислым газом, выделяющимся в результате кислотно-основной реакции [6]. Сорбент прес-суют с карбонатом натрия и твердой кислотой и вводят в анализируемый раствор в виде “шипучей” таблетки. При взаимодействии компонентов таблетки с водой образуются пузырьки углекислого газа, в результате чего сорбент диспергируется в растворе пробы. Таким образом отпадает необходимость в перемешивающих устройствах, упрощается процедура выделения веществ, а в растворе создается буферная смесь, обеспечивающая требуемое значение pH и ионную силу, повышая эффективность извлечения аналитов. Этот вариант МТФЭ часто называют “микро-экстракция магнитными шипучими таблетками” (magnetic effervescent tablet microextraction) [7] или

“магнитная твердофазная экстракция со вспениванием” (effervescence-assisted magnetic dispersive solid-phase extraction) [8]. Кроме МТФЭ, диспергирование углекислым газом в настоящее время применяют в дисперсионной твердофазной [6, 9] и дисперсионной жидкостно-жидкостной [6, 10, 11] микроэкстракции.

На сегодняшний день опубликовано не так много работ, посвященных применению метода МТФЭ с диспергированием сорбента углекислым газом (**МТФЭ-СО₂**) для пробоподготовки пищевых продуктов. Метод применяли для выделения пиретроидов из молока [7] и меда [12], пестицидов из соков [13], бисфенолов из молока [14] и мяса [15], полициклических ароматических углеводородов из мяса [15, 16] и молока [17], стимуляторов роста из овощей и фруктов [18], фунгицидов из сока и меда [19], фталатов из молока [20], нитроимидазолов и их метаболитов из меда [21]. В качестве магнитных сорбентов использовали сорбенты, модифицированные ионными жидкостями [7, 13, 16, 19, 20], сорбенты на основе углеродных нанотрубок [14], металлоорганических каркасов [17], ковалентных органических каркасов [18], а также многофункциональные наноконструктивные магнитные материалы [12, 15, 21].

С целью расширения круга используемых магнитных сорбентов и определяемых веществ в настоящей работе в качестве сорбента для проведения магнитной твердофазной экстракции с диспергированием сорбента углекислым газом предложено применять магнитный сверхсшитый полистирол (**МССПС**). В качестве объектов исследования выбраны амфениколы (хлорамфеникол, флорфеникол и тиамфеникол) — класс антибактериальных препаратов, которые активно используются, как законно, так и нелегально, в ветеринарии. Во многих странах использование хлорамфеникола запрещено для лечения сельскохозяйственных животных [22], но, несмотря на запрет, его продолжают использовать ввиду высокой эффективности и низкой стоимости. Утвержденные максимально допустимые уровни (**МДУ**) для флорфеникола и тиамфеникола в меде и молоке составляют 0.001 мг/кг, а для хлорамфеникола — 0.0003 мг/кг [23, 24]. Из-за необходимости определять крайне низкие содержания этих веществ в продуктах питания разработка новых способов их выделения и концентрирования является актуальной задачей.

Цель работы состояла в оценке возможности применения магнитного сверхсшитого полистирола в методе МТФЭ с диспергированием сорбента углекислым газом для выделения амфениколов из меда и молока и разработке методик их последующего определения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandem-масс-спектрометрическим детектированием (**ВЭЖХ-МС/МС**).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты и материалы. Для получения наноразмерных частиц Fe_3O_4 использовали $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ч. д. а., соль Мора $\text{FeSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ч. д. а., NH_3 ос. ч., соляную кислоту ч. д. а. Объектами исследования служили тиамфеникол (98%, Acros Organics, Бельгия), флорфеникол (>99%, Glenthams, Великобритания) и хлорамфеникол (98%, Acros Organics, Бельгия). В качестве внутреннего стандарта использовали хлорамфеникол- D_5 (99.7%, Witega, Германия). Исходные растворы аналитов (1 мг/мл) в этаноле готовили по точным навескам и хранили в холодильнике (4°C). Рабочие растворы готовили в день использования путем разбавления исходных. Также использовали гидрокарбонат натрия ч. д. а., лимонную ч. д. а., фталевую ч. д. а., винную ч. д. а. и муравьиную ч. д. а. кислоты, ацетонитрил и метанол для ВЭЖХ.

Аппаратура. Применяли высокоэффективный жидкостный хроматограф Shimadzu HPLC Nexera X2 с автоматическим пробоотборником и бинарным насосом в сочетании с тройным квадрупольным масс-спектрометрическим детектором Shimadzu LCMS 8060 (Shimadzu, Япония). Аналиты разделяли на колонке Acclaim™ 120 C18 column (100 × 2.1 мм, 3 мкм) в режиме градиентного элюирования.

Дистиллированную воду дополнительно очищали с помощью системы очистки воды Millipore (Millipore, Германия). Использовали рН-метр-иономер Эксперт 001 (Эконикс-Эксперт, Россия), гидравлический пресс (Техносоюз, Россия), ультразвуковую ванну Elmasonic S15H (Elma Schmidbauer GmbH, Германия), эвапоратор EVA EC S (VLM GmbH, Германия), центрифугу ЦЛн-16 (Xiangzhi Centrifuge, Китай), шейкер для пробирок Sky Line S-3.02M (ELMI Ltd., Латвия). Магнитный сорбент отделяли от раствора, используя неодимовый магнит (20 × 20 × 20 мм).

Условия хроматографического разделения и детектирования. Использовали подвижные фазы, состоящие из 0.5%-ной муравьиной кислоты в воде (А) и 0.5%-ной муравьиной кислоты в смеси ацетонитрила и метанола (50 : 50) (Б). Разделение проводили в режиме градиентного элюирования: линейное увеличение от 5 до 80% Б (0–8 мин), линейное уменьшение от 80 до 5% Б (8–8.1 мин), 5% Б (8.1–10 мин). Скорость потока составляла 0.3 мл/мин. Температуру колонки устанавливали на уровне 40°C, а температура автоматического пробоотборника составляла 15°C.

Тройной квадрупольный масс-спектрометр (Shimadzu LCMS 8060) настраивали на сбор данных в режиме мониторинга множественных реакций (**ММР**). Устанавливали следующие

оптимальные значения параметров: температура интерфейса 300°C; температура линии десольватации 250°C; поток газа-распылителя 3 л/мин; поток газа-осушителя 10 л/мин; поток газа-испарителя 15 л/мин. Время удерживания и параметры ММР для амфениколов и внутреннего стандарта приведены в табл. 1.

Хроматограммы обрабатывали с помощью программы LabSolution Insight (Shimadzu, Япония). Неизвестную концентрацию аналита в пробе определяли методом градуировочного графика (матричная градуировка). Аналитическим сигналом служило отношение площади пика аналита к площади пика внутреннего стандарта. Линейность градуировочных графиков оценивали на модельных образцах, не содержащих остаточных количеств определяемых аналитов.

Сорбент. В качестве исходного материала для получения магнитного сорбента использовали образец сверхсшитого полистирола (ССПС) Ди-апак П-3 (БиоХимМак СТ, Россия). Магнитный сорбент получали путем сорбции предварительно синтезированных наночастиц Fe₃O₄ на ССПС по методике, описанной ранее [25].

Получение таблеток для МТФЭ-СО₂. Для приготовления шипучих таблеток для выделения амфениколов из меда навески гидрокарбоната натрия (0.850 ± 0.001 г) и лимонной кислоты (0.650 ± 0.001 г) объединяли и растирали в фарфоровой ступке, затем к смеси добавляли МССПС (0.020 ± 0.001 г) и снова тщательно перемешивали. Полученную смесь увлажняли 0.25 мл ацетонитрила, переносили в металлическую

форму внутренним диаметром 1.7 см и прессовали в таблетку с помощью гидравлического пресса под давлением 20 бар в течение 5 мин. С целью приготовления шипучих таблеток для выделения амфениколов из молока в фарфоровой ступке смешивали навески гидрокарбоната натрия (1.000 ± 0.001 г) и МССПС (0.020 ± 0.001 г), тщательно растирали, увлажняли 0.25 мл ацетонитрила и прессовали таблетки. Приготовленные таблетки хранили в эксикаторе. Перед проведением МТФЭ таблетки смачивали ацетонитрилом для активирования поверхности ССПС.

Кроме того, для выбора условий, обеспечивающих количественное выделение амфениколов, при приготовлении таблеток варьировали содержание гидрокарбоната натрия, лимонной кислоты и МССПС в их составе.

Методика МТФЭ-СО₂. Анализируемый раствор, содержащий амфениколы (25 мл), помещали в полипропиленовую пробирку емк. 50 мл. К раствору добавляли активированную шипучую таблетку. В результате протекания кислотно-основной реакции между компонентами, входящими в состав таблетки, сразу же образовывалось большое количество пузырьков СО₂, в результате чего магнитный ССПС равномерно распределялся в образце. По окончании бурной реакции, протекающей в зависимости от состава таблеток в течение 80–260 с (табл. 2), и прекращения выделения газа магнитный ССПС отделяли от раствора при помощи магнита, раствор сливали, а сорбент промывали два раза 10 мл воды. Амфениколы десорбировали двукратно 1 мл ацетонитрила

Таблица 1. Времена удерживания и параметры ММР-переходов амфениколов и внутреннего стандарта

Вещество	<i>t_R</i> , мин	<i>Q</i> ₁ <i>m/z</i>	<i>Q</i> ₃ <i>m/z</i>	ЭС*, эВ
Хлорамфеникол	8.76	321.2(-)	-152.2/-257.2	16/12
Флорфеникол	8.10	356.2(-)	-185.2/-119.2	20/31
Тиамфеникол	7.05	354.1(-)	-290.1/-185.2	13/21
Хлорамфеникол-D ₅ (внутренний стандарт)	8.697	326.1(-)	-157.3	17

*Энергия соударений.

Таблица 2. Состав таблеток, содержащих гидрокарбонат и лимонную кислоту в разных мольных соотношениях, pH раствора после сорбции и время выделения углекислого газа (*t*_{реакции})

Мольное соотношение NaHCO ₃ : C ₆ H ₈ O ₇	<i>m</i> (NaHCO ₃), г	<i>m</i> (C ₆ H ₈ O ₇), г	pH	<i>t</i> _{реакции} , с
1 : 1	0.460 ± 0.001	1.040 ± 0.001	4	260
2 : 1	0.700 ± 0.001	0.800 ± 0.001	5.3	210
3 : 1	0.850 ± 0.001	0.650 ± 0.001	6.4	160
4 : 1	0.950 ± 0.001	0.550 ± 0.001	7	80

в течение 5 мин в ультразвуковой ванне. Элюат упаривали досуха в токе воздуха, вновь растворяли аналиты в 1 мл подвижной фазы, полученный раствор пропускали через мембранный фильтр из ПТФЭ с размером пор 0.22 мкм и использовали для определения амфениколов методом ВЭЖХ-МС/МС.

Пробоподготовка образцов меда и молока.

В полипропиленовую пробирку емк. 50 мл вносили 1.00 ± 0.02 г меда, добавляли 100 мкл раствора внутреннего стандарта и растворяли в 25 мл воды. Содержимое пробирки перемешивали на шейкере до полного растворения меда в течение 15 мин. К водному раствору меда добавляли таблетку, содержащую 20 мг МССПС, 0.650 г лимонной кислоты и 0.850 г NaHCO_3 и проводили МТФЭ по методике, описанной выше.

Пробоподготовка молока включала этап отделения белков. К 25 мл молока добавляли 100 мкл раствора внутреннего стандарта и 0.9 мл конц. HCl . Белки отделяли центрифугированием (5 мин, 5000 об/мин), а надосадочную жидкость переносили в чистую пробирку, добавляли активированную таблетку, состоящую из 1 г NaHCO_3 и 20 мг МССПС, и проводили МТФЭ по методике, описанной выше.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор условий МТФЭ- CO_2 для количественного выделения амфениколов. Согласно данным [12, 14] наиболее удобный способ проведения МТФЭ с диспергированием сорбента углекислым газом — это использование таблеток, состоящих из магнитного сорбента, твердой кислоты и карбоната или гидрокарбоната натрия. В данной работе для выделения амфениколов из растворов использовали таблетки, содержащие магнитный сверхсшитый полистирол, гидрокарбонат натрия и лимонную кислоту. Для выбора условий, обеспечивающих количественное

извлечение амфениколов, в составе таблеток варьировали соотношение гидрокарбоната натрия и лимонной кислоты, количество МССПС, а также массу таблеток. Сорбцию проводили из 25 мл водного раствора.

При изучении влияния мольного соотношения гидрокарбоната натрия и лимонной кислоты в составе таблеток использовали таблетки массой 1.5 г, содержащие разные массы гидрокарбоната натрия и лимонной кислоты и 10 мг МССПС (табл. 2). Как видно из данных табл. 2, при увеличении мольного соотношения $\text{NaHCO}_3 : \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ в составе таблеток от 1 : 1 до 4 : 1 уменьшается время выделения CO_2 , а значит, и время диспергирования сорбента от 260 до 80 с и изменяется pH раствора от 4 до 7. Согласно данным, полученным нами ранее [26], сорбция амфениколов на магнитном ССПС в этом интервале не зависит от pH, так как они присутствуют в растворе в виде незаряженных форм (значения pK_a соединений варьируют от 10.7 до 11 [22]). Однако, как видно из данных рис. 1а, сорбция амфениколов методом МТФЭ- CO_2 значительно снижается при использовании таблеток с мольным соотношением гидрокарбоната натрия и лимонной кислоты 4 : 1 (pH 7), что, по-видимому, связано с недостаточной диспергируемостью сорбента, так как время выделения CO_2 в этом случае составляет всего 80 с.

При изучении влияния количества магнитного сорбента в составе таблеток использовали таблетки, содержащие 0.850 г гидрокарбоната натрия, 0.650 г лимонной кислоты и разное количество МССПС. Как видно из рис. 1б, степени извлечения амфениколов увеличиваются с увеличением массы магнитного сорбента в таблетке от 5 и далее к 10 и 20 мг; дальнейшее увеличение количества МССПС в составе таблеток до 25 и 30 мг практически не влияет на сорбцию.

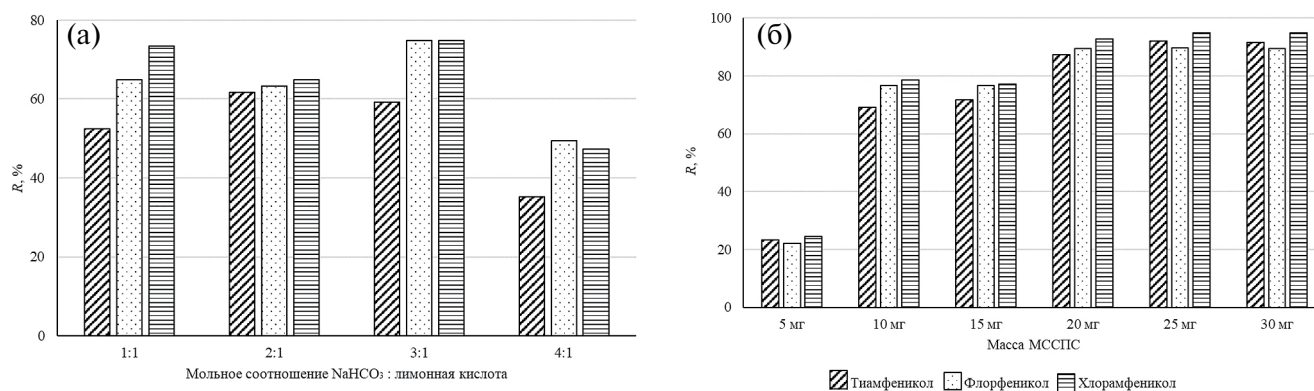


Рис. 1. Степени извлечения амфениколов в зависимости от мольного соотношения гидрокарбоната и лимонной кислоты (а) и содержания МССПС (б) в составе таблеток для МТФЭ- CO_2 . $V = 25$ мл, $m_{\text{МССПС}} = 10$ мг (а), мольное соотношение $\text{NaHCO}_3 : \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ 3 : 1 (б).

Таким образом, для выделения амфениколов из водных растворов методом МТФЭ-СО₂ оптимально использовать шипучие таблетки, содержащие 0.850 г гидрокарбоната натрия, 0.650 г лимонной кислоты и 20 мг МССПС. При этом степени извлечения хлорамфеникола, флорфеникола и тиамфеникола из 25 мл водного раствора составляют 98 ± 2, 94 ± 2 и 95 ± 3% соответственно (*n* = 3, *P* = 0.95), время сорбции – всего 160 с. Количественную десорбцию амфениколов проводили в УЗ-ванне последовательно двумя порциями ацетонитрила по 1 мл, время десорбции 5 мин.

МТФЭ-СО₂ амфениколов из меда и молока для их последующего определения методом ВЭЖХ-МС/МС. Степени выделения амфениколов из меда и молока оценивали с использованием образцов этих пищевых продуктов, не содержащих остаточных количеств определяемых аналитов. К образцам меда (1 г) и молока (25 мл, ~25 г) добавляли 100 мкл раствора внутреннего стандарта, по 1, 5 и 200 нг каждого амфеникола и проводили пробоподготовку по методикам, описанным выше. Для определения внутридневной и междневной повторяемости готовили по 5 и 15 образцов для каждого уровня концентрации соответственно. Как видно из табл. 3, предлагаемый метод обеспечивает не только количественное выделение амфениколов из анализируемых проб (степени выделения составляют от 83 до 117%), но и отличается хорошей воспроизводимостью (*s_r* ≤ 0.12).

Амфениколы определяли методом матричной градуировки. Для построения градуировочных зависимостей в образцы меда и молока, не содержащие аналитов, вводили по 1, 10, 50, 100 и 200 нг каждого амфеникола. Коэффициенты корреляции линейных зависимостей площадей хроматографических пиков аналитов от их концентрации в анализируемых образцах составили не менее 0.99. Масс-хроматограммы

по выделенным ионам для экстрактов меда и молока с добавлением амфениколов представлены на рис. 2. Пределы обнаружения (*c_{min}*) и определения (*c_{lim}*) рассчитывали по отношению аналитического сигнала (интенсивности пика) к шуму, равному 3 и 10 соответственно. Пределы обнаружения и определения составили 0.1–0.3 и 0.3–1 мкг/кг для меда и 0.005–0.02 и 0.02–0.05 мкг/кг для молока соответственно (табл. 3), что позволяет определять амфениколы в этих пищевых продуктах на уровне меньше, чем МДУ.

Для оценки матричного эффекта (МЭ) использовали площади хроматографических пиков аналитов, полученные в условиях анализа образцов, не содержащих аналитов, с добавками амфениколов и соответствующих водных растворов. Расчет проводили по формуле:

$$МЭ (\%) = (C/V) \times 100,$$

где *C* – отношение площади хроматографического пика аналита к площади пика соответствующего внутреннего стандарта в образцах меда или молока, а *V* – отношение площади хроматографического пика аналита к площади пика соответствующего внутреннего стандарта в стандартном растворе. Как видно из табл. 3, в большинстве случаев отклонение величины МЭ от 100% составляет менее 20%, что может быть следствием не только использования метода внутреннего стандарта, но и эффективной очистки экстрактов методом МТФЭ с диспергированием МССПС углекислым газом.

Правильность и воспроизводимость определения амфениколов в меде и молоке оценивали методом введено–найдено. Результаты определения, представленные в табл. 4, свидетельствуют о правильности и хорошей воспроизводимости разработанных методик.

Таблица 3. Основные характеристики ВЭЖХ-МС/МС-определения амфениколов в меде и молоке после их выделения методом магнитной твердофазной экстракции с диспергированием магнитного сверхсшитого полистирола углекислым газом

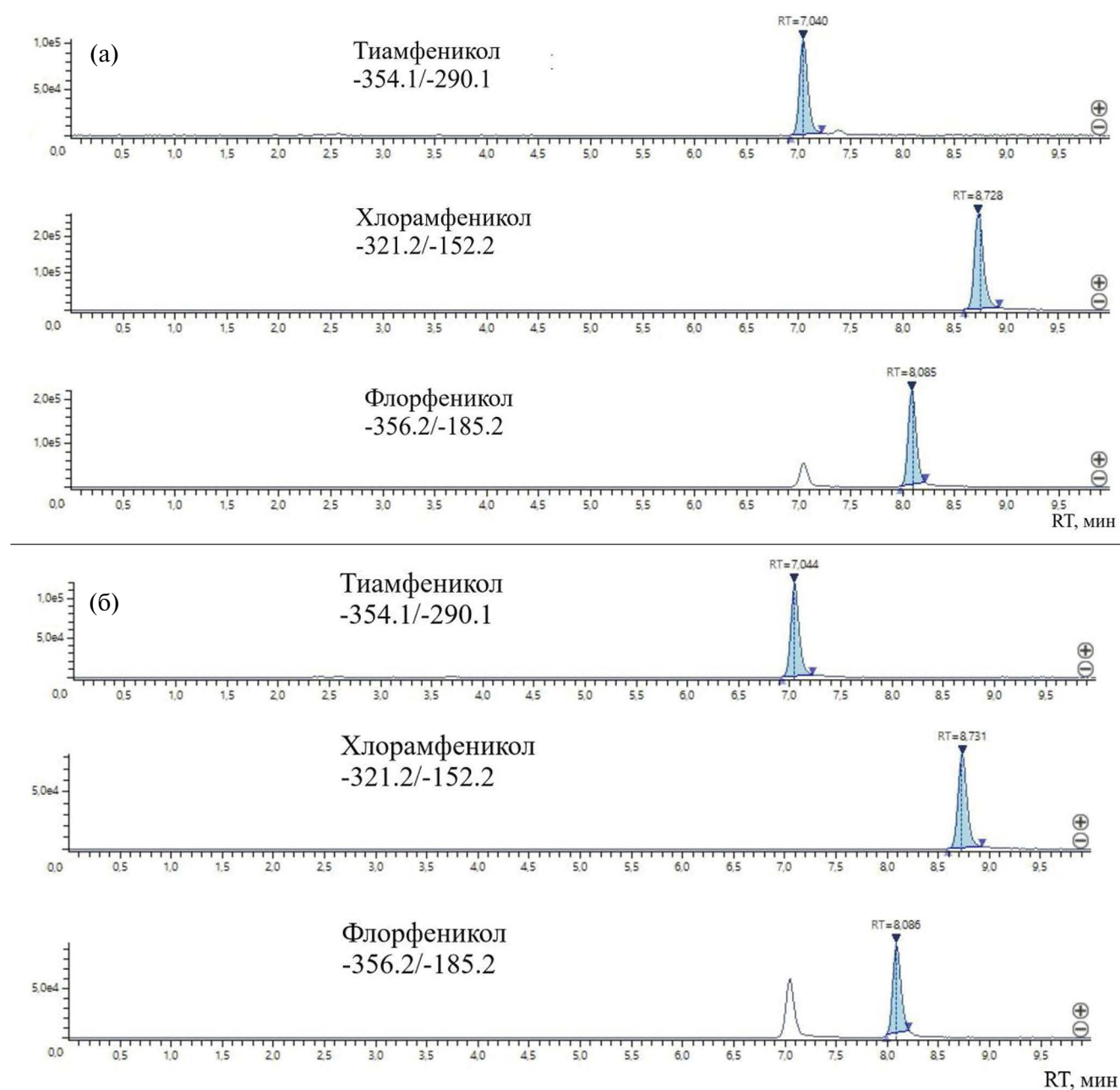
Вещество	Содержание, мкг/кг	Степень выделения, %	Внутридневная повторяемость (<i>s_r</i> , <i>n</i> = 5)	Междневная повторяемость (<i>s_r</i> , <i>n</i> = 15)	МЭ*, %	<i>c_{min}</i> , мкг/кг	<i>c_{lim}</i> , мкг/кг
Мед							
Тиамфеникол	1/5/200	99/101/98	0.09/0.10/0.08	0.12/0.11/0.10	84	0.3	1
Флорфеникол	1/5/200	92/94/95	0.12/0.08/0.10	0.13/0.13/0.07	111	0.1	0.3
Хлорамфеникол	1/5/200	106/102/101	0.11/0.09/0.06	0.15/0.11/0.05	104	0.1	0.3
Молоко							
Тиамфеникол	0.04/0.2/8	105/101/99	0.12/0.10/0.11	0.14/0.13/0.10	83	0.02	0.05
Флорфеникол	0.04/0.2/8	93/92/94	0.13/0.11/0.12	0.14/0.11/0.11	107	0.005	0.02
Хлорамфеникол	0.04/0.2/8	103/102/99	0.12/0.13/0.08	0.12/0.11/0.10	102	0.005	0.02

*МЭ – матричный эффект.

Таблица 4. Оценка правильности и воспроизводимости определения амфениколов методом введено—найдено ($n = 3$, $P = 0.95$)*

Вещество	Мед		Молоко	
	введено, мкг/кг	найдено, мкг/кг (s_r)	введено, мкг/кг	найдено, мкг/кг (s_r)
Тиамфеникол	0	0	0	0
	2.0	2.0 ± 0.6 (0.12)	0.20	0.20 ± 0.05 (0.11)
Флорфеникол	0	0	0	0
	2.0	1.9 ± 0.6 (0.13)	0.20	0.18 ± 0.05 (0.10)
Хлорамфеникол	0	0	0	0
	2.0	2.1 ± 0.5 (0.09)	0.20	0.20 ± 0.06 (0.12)

*Анализировали 1 г меда и 25 мл молока.

**Рис. 2.** Масс-хроматограммы по выделенным ионам экстрактов меда (а) и молока (б) с добавлением 100 и 8 мкг/кг амфениколов соответственно после очистки методом магнитной твердофазной экстракции с диспергированием магнитного сверхсшитого полистирола углекислым газом.

* * *

Таким образом, показано, что метод магнитной твердофазной экстракции с диспергированием магнитного сверхсшитого полистирола углекислым газом можно использовать для количественного выделения и концентрирования амфениколов из меда и молока перед их определением методом ВЭЖХ-МС/МС. За счет интенсивного выделения углекислого газа при растворении таблетки удается обойтись без использования перемешивающих устройств, а магнитные свойства сорбента позволяют отделить его без применения центрифугирования и фильтрации; в результате процедура экстракции занимает менее 3 мин.

Авторы выражают благодарность Междисциплинарной научно-образовательной школе Московского университета “Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды”.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания, тема № АААА-А21-121011990021-7.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дмитриенко С.Г., Аняри В.В., Толмачева В.В., Горбунова М.В., Фурлетов А.А. Дисперсионная и магнитная твердофазная экстракция органических соединений. Обзор обзоров // Журн. аналит. химии. 2024. Т. 79. (Dmitrienko S.G., Aparyari V.V., Tolmacheva V.V., Gorbunova M.V., Furletov A.A. Dispersive and magnetic solid-phase extraction of organic compounds: Review of reviews // J. Anal. Chem. 2024. V. 79. № 2. P. 105. DOI: 10.1134/S1061934824020060)
2. Duo H., Yue J., Zhang X., Li S., Yin Y., Wang L., Li J., Rong W., Wang A., Zhang Y., Zhu Q. Magnetic solid phase extraction based on metal organic framework for pharmaceutical analysis from food, environmental and biological media // Microchem. J. 2024. V. 196. Article 109557. DOI:10.1016/j.microc.2023.109557
3. Fu Q., Xia Z., Sun X., Jiang H., Wang L., Ai S., Zhao R. Recent advance and applications of covalent organic frameworks based on magnetic solid-phase extraction technology for food safety analysis // Trend. Anal. Chem. 2023. V. 162. Article 117054. DOI:10.1016/j.trac.2023.117054
4. Wang N., Zhou X., Cui B. Recent advances and applications of magnetic covalent organic frameworks in food analysis // J. Chromatogr. A. 2023. V. 1687. Article 463702.
5. Yu X., Zhong T., Zhang Y., Zhao X., Xiao Y., Wang L., Liu X., Zhang X. Design, preparation, and application of magnetic nanoparticles for food safety analysis: A review of recent advances // J. Agric. Food Chem. 2022. V. 70. P. 46.
6. Lasarte-Aragonés G., Lucena R., Cárdenas S. Effervescence-assisted microextraction-one decade of developments // Molecules. 2020. V. 25. Article 6053.
7. Zhou P., Chen K., Gao M., Qu J., Zhang Z., Dahlgren R.A., Li Y., Liu W., Huang H., Wang X. Magnetic effervescent tablets containing ionic liquids as a non-conventional extraction and dispersive agent for determination of pyrethroids in milk // Food Chem. 2018. V. 268. P. 468.
8. Gao M., Zhang X., Ma S., Wang J., Mammah M., Du L., Wang X. Ionic-liquid-based effervescence-enhanced magnetic solid-phase extraction for organophosphorus pesticide detection in water samples // Anal. Methods. 2022. V. 14. P. 661.
9. Lasarte-Aragonés G., Lucena R., Cárdenas S., Valcárcel M. Effervescence-assisted dispersive micro-solid phase extraction // J. Chromatogr. A. 2011. V. 1218. P. 9128. doi: 10.1016/j.chroma.2011.10.042
10. Lasarte-Aragonés G., Lucena R., Cárdenas S., Valcárcel M. Effervescence assisted dispersive liquid-liquid microextraction with extractant removal by magnetic nanoparticles // Anal. Chim. Acta. 2014. V. 807. P. 61.
11. Rajendran S., Loha S.H., Ariffin M.M., Khalik W.M. CO₂-effervescence in liquid phase microextraction for the determination of micropollutants in environmental water: A review // J. Anal. Chem. 2021. V. 76. P. 1371.
12. Yang X., Mi Y., Liu F., Li J., Gao H., Zhang S., Zhou W., Lu R. Preparation of magnetic attapulgite/polypyrrole nanocomposites for magnetic effervescence-assisted dispersive solid-phase extraction of pyrethroids from honey samples // J. Sep. Sci. 2020. V. 43. P. 2419.
13. Chen D., Ma S., Zhang X., Wang X., Gao M., Li J., Wang H. Enhanced extraction of organophosphorus pesticides from fruit juices using magnetic effervescent tablets composed of the NiFe₂O₄@SiO₂@PANI-IL nanocomposites // RSC Adv. 2021. V. 11. P. 1668.
14. Ding W., Wang X., Liu T., Gao M., Qian F., Gu H., Zhang Z. Preconcentration/extraction of trace bisphenols in milks using a novel effervescent reaction-assisted dispersive solid-phase extraction based on magnetic nickel-based N-doped graphene tubes // Microchem. J. 2019. V. 150. Article 104109.
15. Liu T., AgyeKum E., Ma S., Ye H., Li J., Gao M., Ni M., Zhang X., Wang X. Novel nanohybrids for effervescence enhanced magnetic solid-phase microextraction of wide-polarity organic pollutants in roasted meat samples // J. Sep. Sci. 2021. V. 44. P. 4313.
16. Zhang W., Zhou P., Liu W., Wang H., Wang X. Enhanced adsorption/extraction of five typical polycyclic aromatic hydrocarbons from meat samples using magnetic effervescent tablets composed of dicationic

- ionic liquids and NiFe₂O₄ nanoparticles // *J. Mol. Liq.* 2020. V. 315. Article 113682.
17. Zhou P., Wang R., Fan R., Yang X., Mei H., Chen H., Huili Wang H., Wang Z., Wang X. Magnetic amino-functionalized metal-organic frameworks as a novel solid support in ionic liquids-based effervescent tablets for efficient extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in milks // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2021. V. 222. Article 112482.
18. Lid N., Wu D., Li X., Zhou X., Fan G., Li G., Wu Y. Effective enrichment and detection of plant growth regulators in fruits and vegetables using a novel magnetic covalent organic framework material as the adsorbents // *Food Chem.* 2020. V. 306. Article 125455.
19. Wu X., Yang M., Zeng H., Xi X., Zhang S., Lu R., Gao H., Zhou W. Effervescence-assisted dispersive solid-phase extraction using ionic-liquid-modified magnetic-cyclodextrin/attapulgit coupled with high-performance liquid chromatography for fungicide detection in honey and juice // *J. Sep. Sci.* 2016. V. 39. P. 4422.
20. Wu L., Li J., Chen Y., Bao X., Tang H., Ma S., Zhou S., Xu M., Tao J., Wang W., Wang X. Preconcentration/extraction of phthalate esters in milk samples using MeFe₂O₄-based magnetic ionic liquid effervescent tablets consisting of accessory functional fillers // *Food Anal. Methods.* 2019. V. 12. P. 2106.
21. Goncharov N.O., Tolmacheva V.V., Melekhin A.O., Apyari V.V., Dmitrienko S.G. Effervescence-assisted magnetic solid-phase extraction of nitroimidazoles and their metabolites using magnetic hypercross-linked polystyrene // *Food Anal. Methods.* 2024. V. 17. P. 382.
<https://doi.org/10.1007/s12161-024-02570-4>
22. Guidi L.R., Tette P.A., Fernandes C., Silva L.H., Gloria M.B. Advances on the chromatographic determination of amphenicols in food // *Talanta.* 2017. V. 162. P. 324.
23. Технический регламент Таможенного союза (ТР ТС 021/2011) “О безопасности пищевой продукции” (Принят Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 9 декабря 2011 г. № 880).
24. Технический регламент Таможенного союза (ТР ТС 033/2013) “О безопасности молока и молочной продукции” (Принят Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 9 октября 2013 г. N 67).
25. Толмачева В.В., Аняри В.В., Ибрагимова Б.Н., Кочук Е.В., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. Полимерный магнитный сорбент на основе наночастиц Fe₃O₄ и сверхсшитого полистирола для концентрирования антибиотиков тетрациклинового ряда. // *Журн. аналит. химии.* 2015. Т. 70. № 11. С. 1149. (Tolmacheva V.V., Apyari V.V., Ibragimova B.N., Kochuk E.V., Dmitrienko S.G., Zolotov Yu.A. A polymeric magnetic adsorbent based on Fe₃O₄ nanoparticles and hypercrosslinked polystyrene for the preconcentration of tetracycline antibiotics // *J. Anal. Chem.* 2015. V. 70. № 11. P. 1313. DOI: 10.1134/S1061934815110155)
26. Толмачева В.В., Савинова В.Ю., Гончаров Н.О., Дмитриенко С.Г., Аняри В.В., Чернавский П.А., Панкина Г.В. Сорбция амфениколов на магнитном сверхсшитом полистироле // *Журн. физ. химии.* 2022. Т. 96. № 6. С. 875.
DOI 10.31857/S0044453722060279 (Tolmacheva V.V., Savinova V.Yu., Goncharov N.O., Dmitrienko S.G., Apyari V.V., Chernavsky P.A., Pankina G.V. Sorption of amphenicols on magnetic hypercross-linked polystyrene // *Russ. J. Phys. Chem. A.* 2022. V. 96. № 6. P. 1268. DOI 10.1134/S0036024422060267)

MAGNETIC SOLID-PHASE EXTRACTION WITH DISPERSION OF MAGNETIC HYPERCROSSLINKED POLYSTYRENE WITH CARBON DIOXIDE FOR THE ISOLATION OF AMPHENICOLS FROM HONEY AND MILK IN THEIR DETERMINATION BY HPLC-MS/MS

N. O. Goncharov^a, V. V. Tolmacheva^{a,*}, T. V. Lazarevich^{a,b}, A. O. Melekhin^c, I. D. Puryskin^a,
V. V. Apyari^a, S. G. Dmitrienko^a

^a *Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry*

GSP-1, Leninskie gory, 1, p. 3, Moscow 119991 Russia

^b *Universität Leipzig, Augustus pl., 10, 04109 Leipzig, Germany*

^c *Federal Center for Animal Health*

Yuryevets, Vladimir, 6009101 Russia

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

Abstract. The magnetic solid phase extraction method with the dispersion of magnetic hypercross-linked polystyrene (MHCPs) with carbon dioxide is proposed for the isolation and concentration of amphenicols (chloramphenicol, florfenicol and thiamphenicol) from honey and milk before their determination by HPLC-MS/MS. Effervescent tablets consisting of sodium bicarbonate, citric acid and MHCPs in the case of honey, sodium bicarbonate and MHCPs in case of milk were used. The conditions for the preparation of tablets (the amount and ratio of acid, base and MHCPs in the composition of the tablet and its mass) were selected, ensuring the quantitative isolation of amphenicols. Methods for the determination of amphenicols in honey and milk with dispersion of the sorbent with carbon dioxide and subsequent determination of compounds by HPLC-MS/MS have been developed. The limits of determination were 0.3–1 and 0.02–0.05 µg/kg for honey and milk, respectively.

Keywords: amphenicols, honey, milk, magnetic solid-phase extraction, carbon dioxide dispersion, magnetic super-crosslinked polystyrene, HPLC-MS/MS

УДК 543.553:543.068.3

СЕЛЕКТИВНОЕ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДОФАМИНА НА ЭЛЕКТРОДЕ, МОДИФИЦИРОВАННОМ ЧАСТИЦАМИ ПАЛЛАДИЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ИМПРИНТИРОВАННЫМ ПОЛИМЕРОМ ИЗ НИКОТИНАМИДА

© 2024 г. Л. Г. Шайдарова^{а, *}, И. А. Челнокова^а, Д. Ю. Хайруллина^а,
Ю. А. Лексина^а, Г. К. Будников^а

^аКазанский федеральный университет, Химический институт им. А.М. Бутлерова
ул. Кремлевская, 18, Казань, 420008 Россия
*E-mail: larisashaidarova@mail.ru

Поступила в редакцию 29.01.2024 г.

После доработки 15.04.2024 г.

Принята к публикации 16.04.2024 г.

Разработан способ изготовления стеклоуглеродного электрода с электроосажденными частицами палладия и молекулярно-импринтированным полимером из никотинамида для определения дофамина в присутствии родственных по структуре соединений. Использование полимера со специфическими центрами распознавания, комплементарными молекуле-темплату, привело к увеличению чувствительности и селективности определения дофамина. Иммобилизация частиц палладия на поверхности электрода позволила увеличить селективность вольтамперометрического определения дофамина в присутствии адреналина и норадреналина. Разность потенциалов пиков окисления этих соединений составляет 200 мВ. Линейная билогарифмическая зависимость аналитического сигнала от концентрации дофамина наблюдается в интервале от 5.0×10^{-9} до 5.0×10^{-3} М. Предложенный способ опробован при анализе образцов урины.

Ключевые слова: химически модифицированные электроды, молекулярно-импринтированный полимер, никотинамид, частицы палладия, стеклоуглеродный электрод, вольтамперометрическое определение дофамина.

DOI: 10.31857/S0044450224090083, EDN: tilihe

Дофамин (ДА) (2-(3,4-дигидроксифенил) - этиламин) является одновременно гормоном и медиатором симпатoadренальной системы, регулирует спектр физиологических функций организма человека, включая локомоторную, когнитивную и эндокринную [1]. Нарушение синтеза ДА является причиной болезни Паркинсона [2]. Недостаток ДА также может проявляться в ухудшении настроения, депрессии, треморе, потере координации, мышечных судорогах, синдроме беспокойных ног или даже в появлении желудочно-кишечных проблем [3]. Кроме того, повышенный уровень гормона наблюдается при заболеваниях почек, обусловленных ухудшением в них кровообращения [4].

Сложность определения ДА в плазме крови и других биологических жидкостях связана со сравнительно низкими его концентрациями в биопробах [5]. Кроме того, в крови ДА быстро окисляется моноаминоксидазами тромбоцитов,

поэтому его определение в биопробах человека должно быть экспрессным (15–30 мин) [6]. Определение ДА часто затруднено присутствием других катехоламинов — адреналина (АД), норадреналина (НАД), их производных и мешающих компонентов (мочевины, аминокислот, аскорбиновой и мочевой кислот и др.) [7], поэтому важен поиск инструментальных методов с высокими селективностью и чувствительностью определения маркеров заболеваний, связанных с нарушением нейромедиаторного обмена.

Вольтамперометрия с химически модифицированными электродами (ХМЭ) значительно расширяет аналитические возможности метода при определении органических соединений [8, 9]. Электрохимическое определение ДА в присутствии АД или НАД проводят на ХМЭ на основе пленки из нафтона [10], частиц золота [11], углеродных материалов [12], а также композитов на их основе [13, 14].

Для селективного вольтамперометрического определения ДА актуальным является создание электродов, модифицированных молекулярно-импринтированными полимерами (МИП), обладающими молекулярной памятью. Такие электроды сочетают в себе высокую механическую и химическую прочность, характерную для шитых материалов, с высокой селективностью в отношении целевых аналитов-биомолекул благодаря образованию комплекса между заданной молекулой-темплатом и функциональными группами полимера [15, 16].

В последние десятилетия широко развивается электрохимический анализ с применением новых материалов для конструирования различных сенсоров. Эти материалы позволяют создавать сенсоры, обладающие высокими селективностью и чувствительностью, способностью к распознаванию органических веществ в биологических жидкостях в присутствии мешающих компонентов. Следует отметить, что мономеры, используемые для синтеза МИП, могут обладать высокой токсичностью и мутагенностью [17], поэтому экологически чистые материалы типа никотинамида (НА), являющегося основным компонентом комплекса витаминов группы В и реакционноспособной частью никотинамидадениндинуклеотида, считают перспективным материалом для получения МИП [18].

В настоящей работе изучена возможность использования стеклоуглеродного электрода (СУЭ), модифицированного композитом из электроосажденных частиц палладия и МИП на основе никотинамида (МИП-СУЭ), для селективного вольтамперометрического определения ДА в присутствии АД и НАД.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Циклические вольтамперограммы (ЦВА) регистрировали с помощью бипотенциостата DropSens μ STAT400 (Испания) с трехэлектродной электрохимической ячейкой объемом 10 мл, в которой рабочим электродом являлся СУЭ. В качестве электрода сравнения и вспомогательного электрода применяли хлоридсеребряный и платиновый электроды соответственно. Циклические вольтамперограммы регистрировали при скорости наложения потенциала (ν) 10–100 мВ/с.

Электроосаждение частиц палладия на поверхности СУЭ проводили потенциостатически из раствора, содержащего хлорид палладия (PdCl_2) х. ч. (Экофарм, Россия).

Формирование МИП на поверхности СУЭ проводили путем электрополимеризации из раствора никотинамида х. ч. (Aldrich, Германия) в присутствии молекулы-темплата ДА

в условиях циклической вольтамперометрии по схеме 1 [19]:

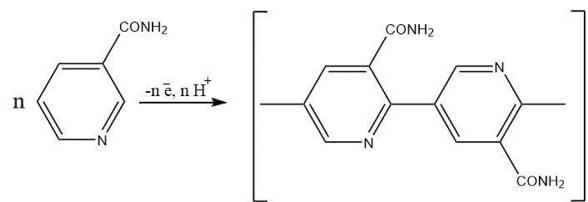


Схема 1. Электрополимеризация никотинамида.

Предварительно СУЭ выдерживали в течение 20 мин при комнатной температуре в фосфатном буферном растворе (стандарт-титр, ЗАО “Уралхиминвест”, Россия), содержащем 10 мкМ НА и 6.5 мкМ ДА для образования предполимеризационного комплекса между молекулами НА и ДА [20]. Далее для получения пленки МИП сканировали потенциал в диапазоне от -1.0 В до +2.0 В в течение 20 циклов при $\nu = 0.1$ В/с. Внедренный ДА удаляли электрохимически путем потенциодинамического электролиза, сканируя потенциал между -0.2 В и +0.8 В в фосфатном буферном растворе в течение нескольких циклов до исчезновения пика окисления ДА.

Композит из МИП и частиц палладия на поверхности электрода получали двумя способами: сначала на поверхности СУЭ формировали МИП, а затем электроосаждали частицы палладия (Pd-МИП-СУЭ) или сначала электроосаждали частицы палладия на поверхности рабочего электрода, а затем формировали МИП (МИП-Pd-СУЭ).

Растворы ДА, АД и НАД готовили по точным навескам реактивов х. ч. (Aldrich, Германия). Растворы меньших концентраций получали разбавлением исходного раствора непосредственно перед измерениями. В качестве фонового электролита использовали 0.1 М H_2SO_4 (стандарт-титр, ЗАО “Уралхиминвест”, Россия).

Импедиметрические измерения проводили с помощью потенциостата-гальваностата AUTOLAB PGSTAT 204N (Нидерланды) со встроенным модулем FRA32M. Спектроскопию электрохимического импеданса применяли для модельной системы, состоящей из 1 мМ смеси гексацианоферрата(II)/(III) калия х. ч. (Aldrich, Германия) в среде 0.1 М KCl х. ч. (Aldrich, Германия) в диапазоне частот от 100 кГц до 0.01 Гц с амплитудой 5 мВ при потенциале 0.24 В. Потенциал рассчитывали как полусумму потенциалов пиков окисления и восстановления редокс-пары $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$.

В качестве биологического объекта использовали урину. Сбор урины проводили натощак с использованием коммерчески доступного стерильного контейнера. Биологический материал

хранили не более 2 ч после забора при комнатной температуре и не более 24 ч при 4°C.

При анализе урины предварительно удаляли белки, так как их присутствие в пробе может блокировать поверхность электрода и снижать чувствительность и точность определения. Раствор центрифугировали в течение 3 мин при скорости 3500 об/мин для того, чтобы отделить нерастворимые компоненты. Далее 5 мл полученной пробы разбавляли до 10 мл фоновым электролитом. Дофамин определяли методом ЦВА на модифицированном электроде.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Электроокисление дофамина на электроде, модифицированном молекулярно-импринтированным полимером из никотинамида. На ЦВА, полученных при окислении ДА на немодифицированном СУЭ в кислой среде, регистрируется растянутый анодный пик при потенциале пика (E_p) 0.75 В (рис. 1а, кривая 1). Зависимость высоты анодного пика от концентрации этого соединения линейна в интервале 5×10^{-4} – 5×10^{-3} М.

Электродные реакции, протекающие на СУЭ в растворах ДА, включают 2-электронный процесс, который сопровождается переносом двух протонов с образованием *о*-хиноидного фрагмента в структуре продукта окисления этого биогенного амина. Электрохимический процесс соответствует следующему уравнению (схема 2) [21]:

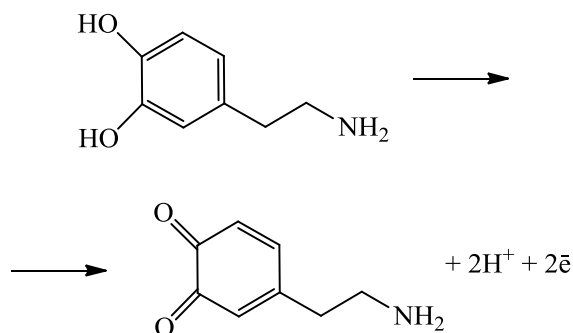


Схема 2. Электроокисление дофамина.

На анодной ветви ЦВА окисления ДА, полученной на электроде МИП-СУЭ, имеется широкий пик при $E_p = 0.55$ В (рис. 1а, кривая 2). При этом величина аналитического сигнала пропорциональна концентрации ДА в интервале от 5×10^{-5} до 5×10^{-3} М. Эта зависимость описывается следующим уравнением:

$$\lg I = (3.0 \pm 0.3) + (0.29 \pm 0.02) \lg c; (I, \text{мкА}; c, \text{М}); R = 0.994.$$

По сравнению с немодифицированным СУЭ на электроде МИП-СУЭ наблюдается

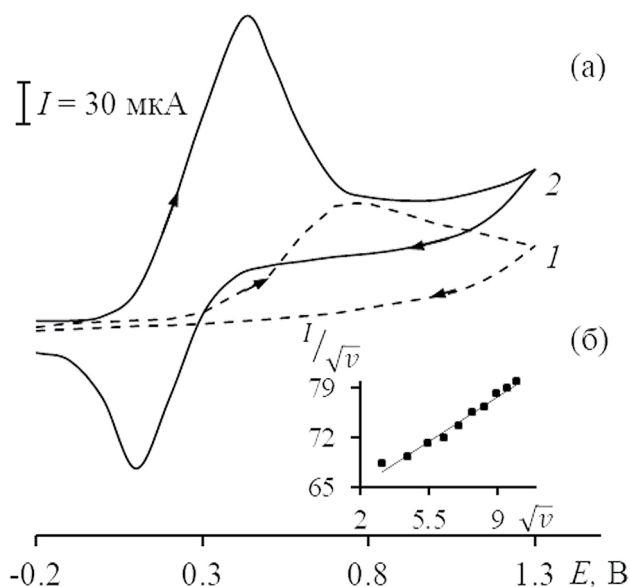


Рис. 1. Циклические вольтамперограммы, полученные на немодифицированном СУЭ (1) и МИП-СУЭ (2) в присутствии дофамина ($c = 5 \times 10^{-3}$ М) на фоне 0.1 М H_2SO_4 (а); зависимость $I/\sqrt{v}$ от $\sqrt{v}$ при электроокислении дофамина на электроде МИП-СУЭ (б).

увеличение тока окисления катехоламина в 2.4 раза и уменьшение потенциала пика его окисления на 200 мВ. Уменьшение потенциала окисления ДА на электроде МИП-СУЭ объясняется электропроводящими свойствами образующейся полимерной пленки и, как следствие, увеличением скорости переноса электрона.

Поскольку в биологических жидкостях, кроме ДА, присутствуют и другие катехоламины, оценили возможность использования электрода МИП-СУЭ для селективного определения ДА в присутствии АД и НАД. Способность электрода МИП-СУЭ распознавать молекулу-темплат оценивали с помощью импринтинг-фактора (IF), рассчитанного как отношение тока окисления органического соединения на ХМЭ на основе МИП ($I_{\text{МИП}}$) к току его окисления на ХМЭ на основе неимпринтированного полимера ($I_{\text{НИП}}$): $IF = I_{\text{МИП}}/I_{\text{НИП}}$. Импринтинг-фактор составил 3.2, 3.8, 3.1 для ДА, АД и НАД соответственно, что указывает на возможность использования этого электрода для распознавания рассматриваемых катехоламинов. Селективное вольтамперометрическое определение рассматриваемых катехоламинов при совместном присутствии на этом ХМЭ затруднено, так как окисление ДА, АД и НАД происходит при близких потенциалах, при этом регистрируемые пики перекрывают друг друга.

Электрокаталитическое окисление дофамина на электродах, модифицированных частицами

палладия и молекулярно-импринтированным полимером из никотинамида. Ранее [22], установлена возможность избирательного определения ДА и АД на углеродном электроде с электроосажденными наночастицами палладия. В данной работе изучили электрохимическое поведение ДА в отсутствие и в присутствии АД и НАД на композитных электродах на основе МИП и электроосажденных частиц палладия. На рис. 2а приведены вольтамперограммы окисления ДА на электродах Pd-МИП-СУЭ (кривая 2) и МИП-Pd-СУЭ (кривая 3).

При окислении ДА на рассматриваемых ХМЭ на анодной ветви ЦВА имеется узкий пик. Электроокисление ДА на этих электродах происходит при одинаковых потенциалах – при $E_p = 0.55$ В. Достигнутая высота пика в несколько раз превышает высоту пика окисления модификатора и растет с увеличением концентрации аналита. Можно предположить, что уменьшение перенапряжения и увеличение тока на электродах Pd-МИП-СУЭ и МИП-Pd-СУЭ связано с каталитическими свойствами металлического модификатора [22]. Наибольшая величина тока пика окисления ДА (I_p) получена при использовании электрода МИП-Pd-СУЭ (табл. 1, рис. 2а, кривая 3).

Для характеристики электронного переноса на рассматриваемых электродах использовали спектроскопию электрохимического импеданса. На рис. 3 представлены соответствующие диаграммы Найквиста. Полуокруг в области высоких частот соответствует лимитирующей

Таблица 1. Вольтамперометрические характеристики окисления дофамина и параметры электрохимического импеданса электродов ($n = 5$, $P = 0.95$)

Электрод	I_p , мкА	R_{et} , кОм
СУ	56.1 ± 1.7	26.2 ± 0.8
Pd-СУ	125 ± 4	4.9 ± 0.2
Pd-МИП-СУ	210 ± 6	0.81 ± 0.03
МИП-Pd-СУ	332 ± 9	0.110 ± 0.006

стадии переноса заряда. Прямолинейный участок для модифицированных электродов в области меньших частот описывает диффузионную составляющую переноса заряда. Для модифицированных электродов диаметр полуокруга существенно меньше, чем для СУЭ, что свидетельствует об увеличении скорости переноса заряда. Как видно из данных табл. 1, для модифицированных электродов значительно снижается сопротивление переносу электрона (R_{et}) по сравнению с СУЭ (в 5 раз для Pd-СУЭ, в 32 раза для Pd-МИП-СУЭ и в 236 раз для МИП-Pd-СУЭ). Таким образом, электроды, модифицированные МИП и частицами палладия, характеризуются высокой скоростью переноса электрона, причем наилучшими характеристиками обладает электрод МИП-Pd-СУЭ.

Положительный наклон зависимости $I/\sqrt{v}$ от $\sqrt{v}$, полученный при окислении ДА на электроде

МИП-Pd-СУЭ (рис. 2б), как и в случае электрода МИП-СУЭ (рис. 1б), свидетельствует об адсорбционном вкладе в значение тока за счет присутствия в структуре полимерной пленки участков (отпечатков), способных к специфическому взаимодействию с молекулами субстрата.

Величина аналитического сигнала на электроде МИП-Pd-СУЭ пропорциональна концентрации ДА в интервале от 5×10^{-9} до 5×10^{-3} М. Зависимость описывается следующим уравнением:

$$\lg I = (3.3 \pm 0.2) + (0.24 \pm 0.01) \lg c; (I, \text{мкА}; c, \text{М}); R = 0.991.$$

Правильность методики определения рассматриваемых соединений оценивали методом введено–найдено. Относительное стандартное отклонение (s_r) не превышает 4.0% во всем диапазоне концентраций (табл. 2). Правильность характеризовали степенью открытия: $CO = (c_{\text{найдено}}/c_{\text{введено}}) \times 100\%$. Полученные значения CO, которые составили 99–101% (табл. 2), подтверждают правильность разработанной методики.

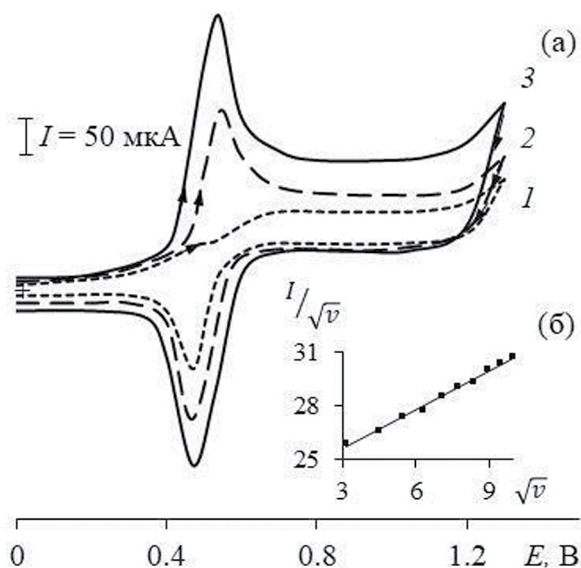


Рис. 2. Циклические вольтамперограммы, полученные на МИП-Pd-СУЭ (1, 3) и Pd-МИП-СУЭ (2) в отсутствие (1) и в присутствии (2, 3) дофамина ($c = 5 \times 10^{-3}$ М) на фоне 0.1 М H_2SO_4 (а); зависимость $I/\sqrt{v}$ от $\sqrt{v}$ при электроокислении дофамина на МИП-Pd-СУЭ (б).

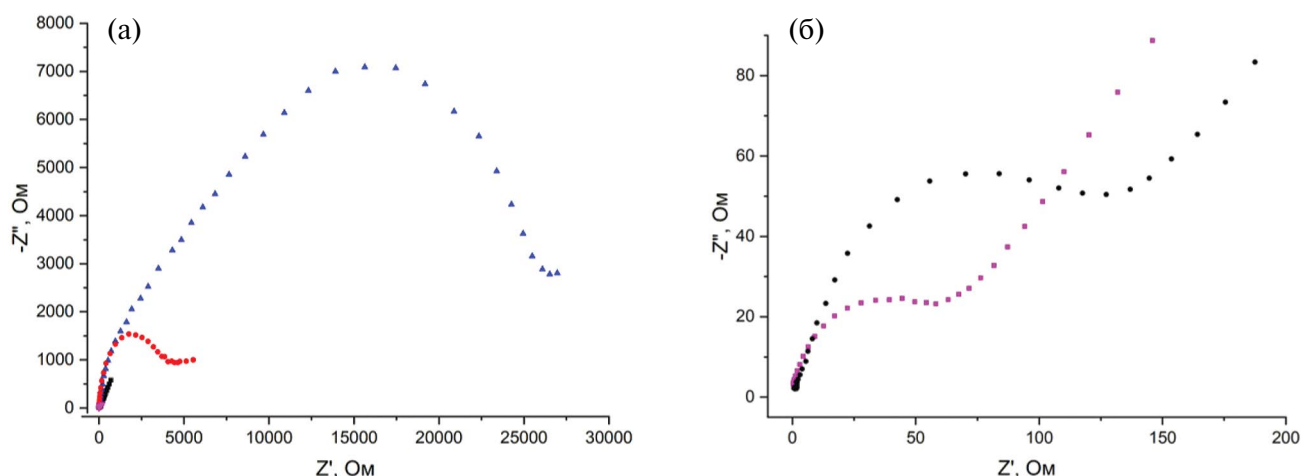


Рис. 3. Диаграммы Найквиста, полученные на немодифицированном СУЭ (1), на Pd-СУЭ (2) (а), на Pd-МИП-СУЭ (3) и МИП-Pd-СУЭ (4) (б) в присутствии 1.0 мМ $K_4[Fe(CN)_6]/K_3Fe(CN)_6$ на фоне 0.1 М KCl в диапазоне частот от 0.01 Гц до 10 кГц с амплитудой 5 мВ при потенциале 0.24 В.

Таблица 2. Результаты вольтамперометрического определения дофамина на электроде МИП-Pd-СУ на фоне 0.1 М H_2SO_4 ($n = 6$, $P = 0.95$)

Введено, мкМ	Найдено, мкМ	СО, %	s_r
0.50	0.500 ± 0.014	100	0.03
1.50	1.49 ± 0.06	99	0.04
2.50	2.52 ± 0.08	101	0.03

Изучили электрохимическое поведение ДА, АД и НАД при совместном присутствии на электроде МИП-Pd-СУЭ. Как и в случае электрода с электроосажденными частицами палладия [22], на анодной ветви циклической вольтамперограммы окисления ДА и АД на электроде МИП-Pd-СУЭ наблюдаются два пика. Дофамин окисляется при $E_p = 0.55$ В, АД – при $E_p = 0.75$ В. Аналогичная картина наблюдается при окислении ДА в присутствии НАД. Различие в потенциалах окисления (разность потенциалов пиков составляет 200 мВ) позволяет селективно определять ДА в присутствии АД и НАД.

Для учета взаимного влияния этих соединений на аналитический сигнал, регистрируемый при электроокислении ДА на ХМЭ, использовали метод добавок, в ходе которого варьировали концентрации мешающего компонента смеси при постоянной концентрации ДА. При определении ДА в смеси ДА/АД или ДА/НАД последовательно регистрировали циклические вольтамперограммы в растворах с постоянной концентрацией ДА ($c = 5 \times 10^{-3}$ М) и возрастающими концентрациями АД или НАД в интервале от 5×10^{-5} М до 5×10^{-3} . На рис. 4 приведены циклические вольтамперограммы окисления ДА

в присутствии АД или НАД на электроде МИП-Pd-СУЭ. Видно, что присутствие в растворе АД и НАД в исследуемом интервале концентраций не влияет на вольт-амперные характеристики окисления ДА.

Таким образом, вольтамперометрический способ определения ДА на электроде МИП-СУЭ отличается высокой селективностью и чувствительностью благодаря свойствам молекулярной памяти МИП, центры распознавания которого имеют форму и размер отпечатков молекул-темплата ДА. Однако на поверхности электрода, модифицированного МИП, вместе с ДА возможно концентрирование структурно близких соединений. Для разделения пиков окисления катехоламинов использовали каталитические свойства палладия в составе электрода МИП-Pd-СУЭ, поскольку наличие иммобилизованных на СУЭ микро- и наночастиц палладия с различной электрохимической активностью приводит к разделению пиков электроокисления ДА и АД, НАД. Снижение перенапряжения и увеличение токов окисления этих соединений наблюдается и на электроде Pd-МИП-СУЭ, но в меньшей степени, что, вероятно, связано с ограничением накопления молекул-темплата в полостях МИП из-за электроосажденных в них частиц палладия. В связи с этим для определения ДА в образцах урины использовали композитный электрод МИП-Pd-СУЭ.

Вольтамперометрическое определение дофамина на электроде, модифицированном частицами палладия и молекулярно-импринтированным полимером из никотинамида, в урине. Предложенный вольтамперометрический способ позволяет селективно определять ДА с высокой чувствительностью в урине. Степень открытия

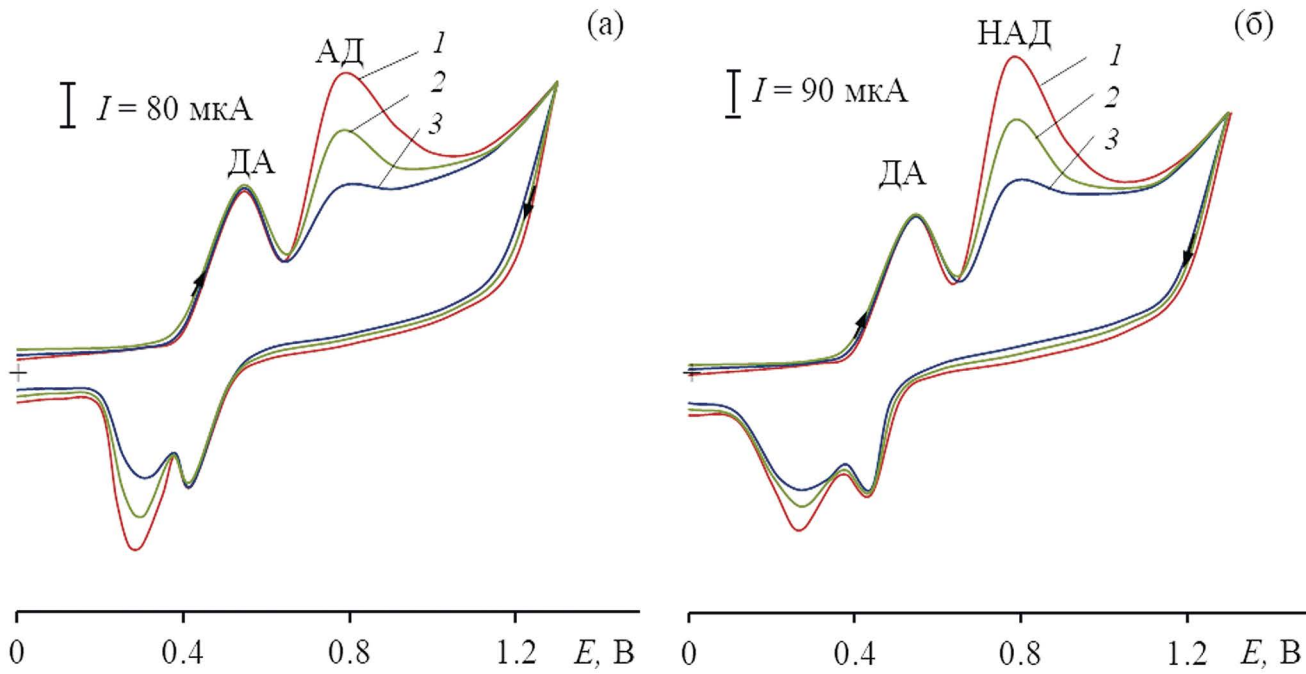


Рис. 4. Циклические вольтамперограммы, полученные на МИП-Pd-СУЭ при электроокислении дофамина ($c = 5 \times 10^{-3}$ М) в присутствии адреналина с концентрацией 5×10^{-5} (1), 5×10^{-4} (2), 5×10^{-3} (3) М (а) и норадреналина с концентрацией 5×10^{-5} (1), 5×10^{-4} (2), 5×10^{-3} (3) М (б) на фоне 0.1 М H_2SO_4 .

Таблица 3. Результаты вольтамперометрического определения дофамина в образцах урины на электроде МИП-Pd-СУ на фоне 0.1 М H_2SO_4 ($n = 6$, $P = 0.95$)

Образец	Норма, мкМ [23]	Введено, мкМ	Расчет, мкМ	Найдено, мкМ	СО, %	s_r
№ 1	0.34–2.6	—	—	2.50 ± 0.08	—	0.02
		0.5	3.0	2.95 ± 0.09	98	0.03
		1.0	3.5	3.47 ± 0.06	99	0.02
		5.0	7.5	7.42 ± 0.22	99	0.04
№ 2		—	—	1.81 ± 0.05	—	0.03
		0.5	2.3	2.26 ± 0.09	98	0.04
		1.0	2.8	2.77 ± 0.08	99	0.03
		5.0	6.8	6.7 ± 0.3	98	0.05

при определении ДА в образцах урины составляет 98–99% (табл. 3), что подтверждает отсутствие влияния матричных компонентов (НАД, АД, мочевой кислоты, глюкозы, мочевины, аминокислот и др.) и высокую точность определения ДА на электроде МИП-Pd-СУЭ. Все это указывает на возможность применения предлагаемого электрода для вольтамперометрического определения ДА в реальных образцах.

Таким образом, разработан модифицированный электрод с иммобилизованным композитом на основе электроосажденных частиц палладия и молекулярно-импринтированного полимера, полученного из экологически чистого мономера — никотинамида. Используемый композитный электрод позволяет проводить

селективное вольтамперометрическое определение дофамина в присутствии адреналина и норадреналина с высокой чувствительностью. Предложенный способ опробован при анализе образцов урины.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (“Приоритет-2030”).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все исследования проводились в соответствии с принципами биомедицинской этики, изложенными в Хельсинкской декларации 1964 г. и последующих поправках к ней. Биологические образцы были предоставлены авторами публикации. Каждый участник исследования дал добровольное письменное информированное согласие после получения разъяснений о потенциальных рисках и преимуществах, а также о характере предстоящего исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Liu X., Liu J. Biosensors and sensors for dopamine detection // View. 2021. V. 2. № 1. Article 20200102. <https://doi.org/10.1002/VI W.20200102>
2. Ramesh S., Arachchige A.S.P.M. Depletion of dopamine in Parkinson's disease and relevant therapeutic options: A review of the literature // AIMS Neurosci. 2023. V. 10. № 3. P. 200. <https://doi.org/10.3934/Neuroscience.2023017>
3. Moghaddam B., Abbas A.I. Depression and prefrontal cortex: All roads lead to dopamine // Biol. Psychiatry. 2022. V. 91. № 9. P. 773. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2022.02.015>
4. Olivares-Hernández A., Figuero-Pérez L., Cruz-Hernandez J.J., González Sarmiento R., Usategui-Martin R., Miramontes-González J.P. Dopamine receptors and the kidney: An overview of health-and pharmacological-targeted implications // Biomolecules. 2021. V. 11. № 2. P. 254. <https://doi.org/10.3390/biom11020254>
5. Shakeel F., Fazal M.W., Zulfiqar A., Zafar F., Akhtar N., Ahmed A., Shafiq Z. Melamine-derived N-rich C-entrapped Au nanoparticles for sensitive and selective monitoring of dopamine in blood samples // RSC Adv. 2022. V. 12. № 40. P. 26390.
6. Perry M., Li Q., Kennedy R.T. Review of recent advances in analytical techniques for the determination

- of neurotransmitters // Anal. Chim. Acta. 2009. V. 653. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.08.038>
7. Tampu R.I., Finaru A., Elfakir C. Determination of catecholamines and related molecules in brain extract using a hydrophilic interaction liquid chromatography mass spectrometry method // Sci. Study Res. Chem. Chem. Eng., Biotechnol., Food Ind. 2020. V. 21. № 1. P. 59.
8. Шайдарова Л.Г., Будников Г.К. Химически модифицированные электроды на основе благородных металлов, полимерных пленок или их композитов в органической вольтамперометрии // Журн. аналит. химии. 2008. Т. 63. № 10. С. 1014. (Shaidarova L.G., Budnikov G.K. Chemically modified electrodes based on noble metals, polymer films, or their composites in organic voltammetry // J. Anal. Chem. 2008. V. 63. № 10. P. 922. <https://doi.org/10.1134/S106193480810002X>)
9. Sajid M., Baig N., Alhooshani K. Chemically modified electrodes for electrochemical detection of dopamine: Challenges and opportunities // Trends Anal. Chem. 2019. T. 118. P. 368. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.042>
10. Nasa K., Kurnia I., Hartati Y.W., Einaga Y. Low-interference norepinephrine signal on dopamine detection using nafion-coated boron doped diamond electrodes // Biosens. Bioelectron. 2023. V. 220. Article 114892. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2022.114892>
11. de Matos Morawski F., Xavier B.B., Virgili A.H., dos Santos Caetano K., de Menezes E.W., Benvenuti E.V., Arenas L.T. A novel electrochemical platform based on mesoporous silica/titania and gold nanoparticles for simultaneous determination of norepinephrine and dopamine // Mater. Sci. Eng. C. 2021. V. 120. Article 111646. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111646>
12. Yin B., Zhai H.L., Zhao B.Q., Bi K.X., Mi J.Y. Chemometrics-assisted simultaneous voltammetric determination of multiple neurotransmitters in human serum // Bioelectrochemistry. 2021. V. 139. Article 107739. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2021.107739>
13. Vinoth V., Natarajan L.N., Mangalaraja R.V., Valdes H., Anandan S. Simultaneous electrochemical determination of dopamine and epinephrine using gold nanocrystals capped with graphene quantum dots in a silica network // Microchim. Acta. 2019. V. 186. P. 1. <https://doi.org/10.1007/s00604-019-3779-9>
14. Fatma S., Prasad B.B., Jaiswal S., Singh R., Singh K. Electrochemical simultaneous analysis of dopamine and epinephrine using double imprinted One MoNomer acryloylated graphene oxide-carbon black composite polymer // Biosens. Bioelectron. 2019. V. 135. P. 36. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.04.016>
15. Ndunda E.N. Molecularly imprinted polymers – A closer look at the control polymer used in determining

- the imprinting effect: A mini review // *J. Mol. Recognit.* 2020. V. 33. № 11. P. 2855.
<https://doi.org/10.1002/jmr.2855>
16. Villa C.C., Sánchez L.T., Valencia G.A., Ahmed S., Gutiérrez T.J. Molecularly imprinted polymers for food applications: A review // *Trends Food Sci. Technol.* 2021. V. 111. P. 642. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.003>
 17. Viveiros R., Rebocho S., Casimiro T. Green strategies for molecularly imprinted polymer development // *Polymers*. 2018. V. 10. № 3. P. 306.
<https://doi.org/10.3390/polym10030306>
 18. Li B., Zhou Y., Wu W., Liu M., Mei S., Zhou Y., Jing T. Highly selective and sensitive determination of dopamine by the novel molecularly imprinted poly (nicotinamide)/CuO nanoparticles modified electrode // *Biosens. Bioelectron.* 2015. V. 67. P. 121.
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.07.053>
 19. Zhu X., Lin X. Electropolymerization of niacinamide for fabrication of electrochemical sensor: Simultaneous determination of dopamine, uric acid and ascorbic acid // *Chin. J. Chem.* 2009. V. 27. № 6. P. 1103.
<https://doi.org/10.1002/cjoc.200990184>
 20. Лисичкин Г.В., Крутяков Ю.А. Материалы с молекулярными отпечатками: синтез, свойства, применение // *Успехи химии*. 2006. Т. 75. № 10. С. 998.
<https://doi.org/10.1070/RC2006v-075n10ABEH003618>
 21. Ribeiro J.A., Fernandes P.M., Pereira C.M., Silva F. Electrochemical sensors and biosensors for determination of catecholamine neurotransmitters: A review // *Talanta*. 2016. V. 160. P. 653.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.06.066>
 22. Шайдарова Л.Г., Челнокова И.А., Лексина Ю.А., Гедмина А.В., Будников Г.К. Использование двойного планарного электрода с наночастицами палладия для проточно-инжекционного амперометрического определения дофамина и адреналина // *Журн. аналит. химии*. 2020. Т. 75. С. 736.
<https://doi.org/10.31857/S0044450220080137> (Shaidarova L.G., Chelnokova I.A., Leksina Y.A., Gedmina A.V., Budnikov H.C. A dual screen-printed electrode with palladium nanoparticles for the flow-injection amperometric determination of dopamine and adrenaline // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. № 8. P. 1059.)
 23. Grouzmann E., Lamine F. Determination of catecholamines in plasma and urine // *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013. V. 27. P. 713.
<https://doi.org/10.1016/j.beem.2013.06.004>

SELECTIVE VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF DOPAMINE ON AN ELECTRODE MODIFIED WITH PALLADIUM PARTICLES AND A MOLECULAR IMPRINTED POLYMER FROM NICOTINAMIDE

L. G. Shaidarova^{a,*}, I. A. Chelnokova^a, D. Y. Khairullina^a, Y. A. Leksina^a, H. C. Budnikov^a

^a Butlerov Institute of Chemistry KFU, 18 Kremlyovskaya St., Kazan, 420008 Russia

*E-mail: larisashaidarova@mail.ru

Abstract. A method for manufacturing a glass-carbon electrode with electrodeposited palladium particles and a molecular imprinted polymer from nicotinamide for the determination of dopamine in the presence of structurally related compounds has been developed. The use of a polymer with specific recognition centers complementary to the template molecule led to an increase in the sensitivity and selectivity of dopamine detection. Immobilization of palladium particles on the electrode surface made it possible to increase the selectivity of the voltammetric determination of dopamine in the presence of adrenaline and norepinephrine. The potential difference of the oxidation peaks of these compounds is 200 mV. The linear bilogarithmic dependence of the analytical signal on the dopamine concentration is observed in the range from 5.0×10^{-9} to 5.0×10^{-3} M. The proposed method was tested in the analysis of urine samples.

Keywords: chemically modified electrodes, molecular imprinted polymer, nicotinamide, palladium particles, glass-carbon electrode, voltammetric determination of dopamine

В НАУЧНОМ СОВЕТЕ РАН ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

ЗАСЕДАНИЕ БЮРО СОВЕТА

22 февраля 2024 г. состоялось заседание бюро совета (в формате онлайн). Обсуждались текущие дела (выступал председатель совета академик РАН Ю.А. Золотов), план мероприятий совета на 2024–2025 гг. (ученый секретарь к.х.н. И.Н. Киселева), итоги конкурса на соискание премий совета 2023 г. (председатель жюри по присуждению премий совета, д.ф.-м.н. М.Н. Филиппов), проведение 48-ой Годичной сессии (Ю.А. Золотов).

Утвержден план мероприятий совета на 2024 и 2025 гг.

2024 г.: 14-й Зимний симпозиум по хемометрике (26.02–01.03, Армения, Цахкадзор); участие совета в организации научной программы 22-ой Международной выставки лабораторного оборудования и химических реактивов AnalyticaExpo2024 (16.04–18.04, Москва, МВК “КрокусЭкспо”); XI Всероссийская конференция по электрохимическим методам анализа “ЭМА-2024” (12.05–17.05, Екатеринбург); XXII Менделеевский съезд по общей и прикладной химии, в программу которого включена секция “Аналитическая химия: новые методы для химических исследований и анализа” (07.10–12.10, Сочи, “Сириус”). Объединенная комиссия по хроматографии проведет на XXII Менделеевском съезде симпозиум “Современная хроматография и ее перспективы”. Продолжат работу Московский и Санкт-Петербургский семинары по аналитической химии. Студенческие конференции с секциями по аналитической химии пройдут в вузах Самары, Екатеринбурга, Ижевска.

2025 г.: 13-я Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды “Экоаналитика-2025” (19–25 мая, Санкт-Петербург); Симпозиум по хроматографии и сорбционным процессам в рамках 3-ей Всероссийской конференции “Физико-химические методы в междисциплинарных экологических исследованиях” (сентябрь, Севастополь); VII Всероссийский симпозиум “Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии” (с международным участием) (21–27 сентября, Краснодар).

Премии совета за 2023 г. Состав жюри: д.х.н. С.С. Гражулене; д.х.н. С.Н. Штыков, д.х.н. М.А. Проскурнин, д.ф.-м.н. М.Н. Филиппов (председатель). Заявок на премию в номинации “За существенный вклад в развитие аналитической химии” подано не было. На молодежную премию в совет поступили 4 заявки. При рассмотрении представленных материалов было принято во внимание наличие у кандидатов собственного направления, уровень публикаций, выступление претендента в качестве первого автора, личный вклад автора, актуальность тематики. По этим критериям победителями конкурса стали Горбовская Анастасия Владимировна, к.х.н., нс кафедры аналитической химии химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, и Мальцев Артем Сергеевич, к.х.н., нс Института земной коры СО РАН, Иркутск. Тема работы А.В. Горбовской – “Разработка новых подходов к формированию полимерных функциональных слоев сорбентов для жидкостной хроматографии”. Автором представлено 8 статей, 4 из которых опубликованы

в изданиях с квартилем Q1. Тематика работы А.С. Мальцева – “Совершенствование способов пробоподготовки образцов, обработки данных и метрологической оценки методик рентгенофлуоресцентного анализа с полным внешним отражением”. Представлено 11 статей, 3 из которых опубликованы в изданиях с квартилем Q1. Предложение жюри было поддержано единогласно.

Вопрос о месте и времени проведения 48-ой Годишной сессии совета возник в связи с поступившими от некоторых членов бюро предложениями проводить сессии в формате отдельных мероприятий, а не в рамках научных конференций, как практиковалось в последнее время. Большинство членов бюро пришло к заключению, что пока следует проводить сессии в рамках конференций. Высказано пожелание об организации онлайн-трансляции заседаний. 48-я Годишная сессия совета прошла в онлайн формате 27 июня 2024 г.

И.Н. Киселева